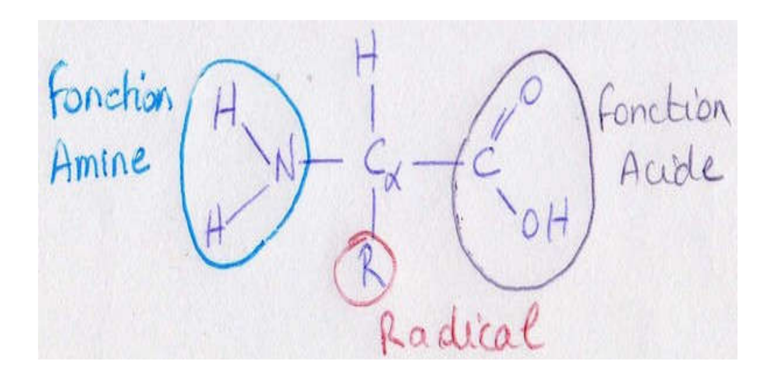
Les Acides Aminés

Les protides sont les composés organiques les plus abondants dans la cellule (plus de 50% du poids sec). Ils jouent un rôle prédominant dans le fonctionnement cellulaire. Ils sont constitués de molécules élémentaires: les Acides Aminés (AA).

1. Formule Générale

Un « Acide Aminé » est par définition un acide avec une fonction amine:



Il existe 20 AA courants faisant partis des protéines naturelles. Par définition, ils possèdent une fonction acide carboxylique et une fonction amine liées sur le Carbone alpha. Certains AA sont « essentiels » cad que l'organisme humain est incapable de les synthétiser et que donc l'alimentation doit nous les fournir.

Il existe en plus des 20 AA essentiels, des AA « particuliers » comme par exemple le DAP: acide DiAminoPimélique de formule:

$$HOOC(NH_2)CH-(CH_2)_3-CH(COOH)(NH_2)$$

2. Classification

Il existe plusieurs types de classification, on peut notamment les classer suivant la nature cyclique ou linéaire du radical. On dit que les AA sont soit « aliphatiques » cad avec un radical linéaire, soit cyclique.

On distingue les AA non-polaires (apolaire = hydrophobe) = pas de liaisons avec l'H20 au niveau du radical.

Les AA polaires, quant à eux peuvent former des liaisons avec l'eau. Soit des liaisons hydrogènes = polaires non chargées, soit des liaisons ioniques = polaires chargées.

AA acides ou AA basiques en fonction du pH.

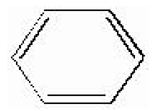
3. Propriétés Physiques des AA

Leur solubilité

La solubilité dépend de la nature du radical (R). Plus la chaîne apolaire est longue, plus la solubilité est diminuée (l'hydrophobicité augmente).
Elle dépend également du pH dans lequel l'AA est placé. Au pHi la solubilité est minimale.
Enfin elle dépend de la concentration en ion ([ions]) de la solution. Plus il y a d'ions, plus la solubilité diminue.

L'absorption dans l'UV

Si l'on se place à λ=280nm alors on peut doser les AA aromatiques (cad avec un cycle).
On peut alors doser les protéines au spectrophotomètre.



Pouvoir rotatoire

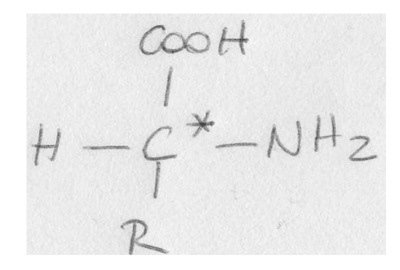
Pouvoir rotatoire

Capacité de faire dévier le plan d'une lumière polarisée (sur un seul plan).
Cette propriété physique est liée à l'existence d'un C asymétrique (notée C*), on dit alors que la molécule est « optiquement active ».

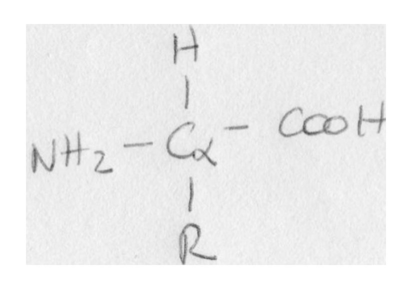
Les AA qui dévient la lumière à droite sont dits « Dextrogyrent (+) », ceux qui la dérivent à gauche sont dits « Lévogyrent (-) ».

Configuration spatiale

Un composé présentant un C* peut être représenté de 2 façons selon la « Représentation de Fisher ». Ces 2 représentations sont appelées « Enantiomères » (=car particuliers des stéréoisomères). Ces deux composés sont images l'une de l'autre dans un miroir mais ne sont pas supperposables.
Règles de réprésentation: COOH toujours en haut, R en bas.



Si NH2 à droite, l'AA appartient à la série D



Si NH2 à gauche alors l'AA appartient à la série L

Tous les AA naturels appartiennent à la série L.
Rmq: le pouvoir rotatoire est une donnée physique, non prévisible a priori, il faut l'étudier expérimentalement.
Il n'y a aucun lien entre la série D et le terme dextrogyre comme il n'y a aucun lien entre la série L et le terme lévogyre (et vice versa).

4. Propriétés d'ionisation

Propriété essentielle car elle conditionne le comportement de l'AA en solution aqueuse selon le pH de cette solution.

Rappels

Un acide est un composé qui cède un / des protons (H+).
Une base est un composé qui accepte des protons.

$$AH \rightleftharpoons A^- + H^+$$

Cet équilibre répond à une constante de dissociation KA:

KA = [A-] x [H+] / [AH]

On pose pKA = - log KA
On sait que pH = - log [H+]
Si [A-] = [AH] <=> KA = [H+] <=> pH = pKA
Le pKA correspond au pH de demi-dissociation. Donc quand pH = pKA il y a autant de Base que d'Acide conjugé.
Plus le pKA d'un couple est faible, plus l'acide est fort (cad qu'il libère plus facilement des protons).

KA = [A-] x [H+] / [AH]

[H+] = KA x [AH] / [A-]

log [H+] = log (KA x [AH] / [A-])

log [H+] = log KA + log ([AH] / [A-])

- log [H+] = - log KA - log ([AH] / [A-])

pH = pKA + log ([A-] / [AH])

Equation d'Henderson – Hasselbalch

A- = accepteur de protons
AH = donneur de protons

Ionisation de groupement COOH et NH2 des AA

Les fonctions COOH et NH2 sont les uniques fonctions ionisables des AA. Chaqune s'ionise de la façon suivante:

$$COOH \rightleftharpoons COO^- + H^+$$

$$NH_2 + H^+ \rightleftharpoons NH_3^+$$

En solution, un AA peut exister sous plusieurs ionisations en fonction du pH de la solution.

$$NH_3^+ - C_\alpha(H)(R) - COOH$$

A+

$$NH_3^+ - C_\alpha(H)(R) - COO^-$$

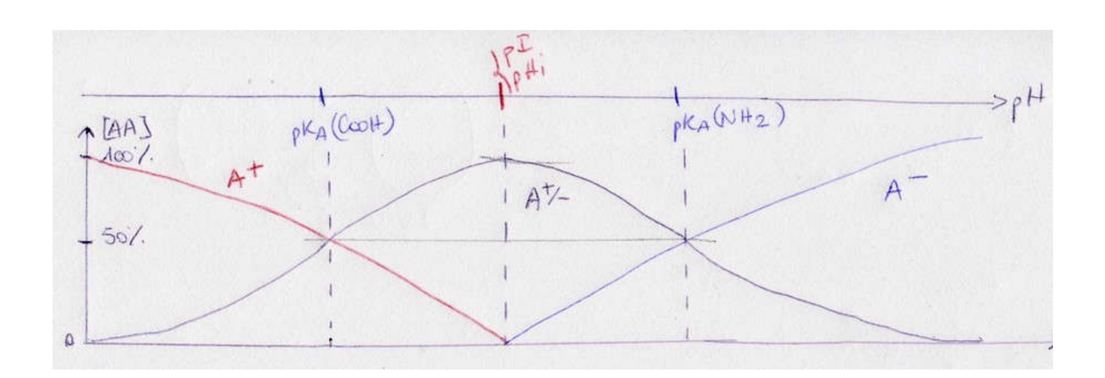
A+/-

$$NH_2 - C_\alpha(H)(R) - COO^-$$

A-

Un AA ne peut exister en solution que sous une de ces trois formes ci-dessus. Donc la forme NH2-CH-COOH avec le radical est la forme dite solide.

$$NH_3^+-C_\alpha H(R)-COOH \rightleftarrows NH_3^+-C_\alpha H(R)-COO^- \rightleftarrows NH_2-C_\alpha H(R)-COO^-$$



Quand le pH du milieu est inférieur au pKA d'un couple A/B, la forme majoritaire est la forme acide conjugée A+.
=> Qd pH = pKA <=> A = B <=> A+/-
=> Qd pH > pKA <=> majoritaire = A-
=> Qd pH = pHi, la solution est globalement neutre.

Notion de pHi

C'est le pH dit « isoélectrique » cad le pH pour lequel la charge globale de l'AA est nulle et pour lequel la [A+] = [A-]. C'est donc à ce pH que l'AA sera le moins soluble. Cette forme globalement neutre A+/- est dite « zwiterrionique ».

Calcul du pHi:

pH = pKA + log [A-] / [A+]

couple: COOH/COO- pK1: pH = pk1 + log |A-| / |A+/-| [1]
couple: NH2/NH3+ pK2: pH = pk2 + log |A+/-| / |A+| [2]
On additionne [1] et [2]: 2pH = pK1 + pK2 + log |A-| / |A+/-| + log |A+/-| / |A+|
2pH = pK1 + pK2 + log ((|A-| / |A+/-|) x (|A+/-| / |A+|))
2pH = pK1 + pK2 + log |A-| / |A+|
Or on a pH = Phi <=> |A-| = |A+|

2pHi = pK1 + pK2

pHi = ½ (pK1 + pK2)

Exemple du Glycocolle:
Formule:

pK1 COOH = 2,5 pK2 NH2 = 9,5

Montrer qu'à pHi la forme ultramajoritaire est la forme A+/-
A un pH donné on a: |A+| + |A+/-| + |A-| = 100%

pHi = pK1 + log (|A+/-|/|A+|)

En plus à pHi: |A+| = |A-|
6 – 2,5 = log (|A+/-|/|A+|) = 3,5
=> 103,5 = |A+/-|/|A+| => environ |A+/-| = 3000 |A+|
Or si on remplace dans |A+| + |A+/-| + |A-| = 100%
|A+| + 3000 |A+| + |A+| = 100
3002|A+| = 100
|A+| = 0,003% => donc |A+/| majoritaire.

Exemple du l'Acide Aspartique (Asp):
Cet acide a trois fonctions ionisables:
pK1 = 2,3 C-COOH
pK2 = 9,7 C-NH2
pK3 = 3,9 C-R

Le pHi est dans A+/- : pHi = ½ (2,3 + 3,9) = 3,1.

Pour les AA dont le Radical s'ionise, et qui sont dits “acide” (Asp et Glu), on montre que:

pHi = ½ (pK1 + pKR)

Montrer qu'au pHi, la forme A2- est négligeable.
pHi = pKNH2 + log (|A2-| / |A-|)
3,1 = 9,7 + log (|A2-| / |A-|)
|A2-| = 10-6,6 |A-|
pHi = pKR + log (|A-| / |A+/-|)
|A-| = 10-0,8 = 0,158 |A+/-|
Donc |A2-| au pHi est ultraminoritaire.

Exemple de la Lysine (Lys):
pK1 = 2,2 C-COOH
pK2 = 8,9 C-NH2
pK3 = 10,5 C-R

Pour tous les AA avec un R dit “basique”, on montre:

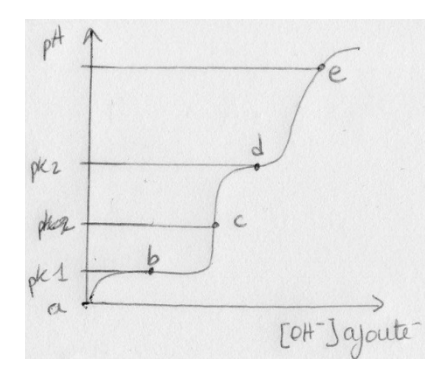
pHi = ½ (pK2 + pKR)

Conséquences de l'ionisation des AA

Courbe de Titrage

Il est possible de doser des AA par pHmétrie. En solution (aqueuse) pour pouvoir étudier toutes les fonctions présentes, il est indispensable de rendre la solution très acides par ajout d'un acide fort (H3O+Cl-). L'AA est alors dit sous forme chlorhydrate » cad chargé + (A+ ou A2+).

Ensuite on ajoute une solution de soude concentrée. Chaque addition est suivie de la mesure du pH.



Courbe de neutralisation

On observe 3 zones dont 2 zones de faible pente 1 et 3.
Dans la zone 1: ph acides, l'addition de soude neutralise progressivement les protons issus de la fonction dont le pK est le plus faible, cad la fonction C-COOH.
Quand la fonction est titrée à 50%, la [COOH] = [COO-] et donc le pH = pH1.
La courbe de titration possède une pente faible autour de pK1 cad que le pH varie peu malgré l'ajout de base. Cette propriété est largement utilisée lors de la préparation de solutions tampons.
Dans la zone 3: on observe la titration des protons venus de la dissociation de la fonction NH3+. La demi titration correspond à pH = pK2. Il y a également une pente faible autour de pK2.
La zone 2: ici pente la plus forte. Elle représente la fin de la titration de la fonction -COOH et le début de la titration de la fonction -NH3+. C'est dans cette zone que l'on rencontre la plus forte concentration de zwiterrion.
On remarque: la courbe de titration des AA dont le R est ionisable fera apparaître une autre zone de titration.

Le pouvoir tampon

Une solution tampon est une solution dont le pH varie peu soit pas addition d'acide, soit par addition de base ou par dilution dans de l'eau.
Le pouvoir tampn est exprimé en nombre de moles de protons captés ou cédés faisant varier le pH d'une unité.
Ce pouvoir tampon correspond à l'inverse du coefficient directeur de la tangente à la courbe.
L'effet tampon est max. quand on est à pH = pK.
Pour choisir un tampon il faut que le couple A/B ait un pKA le plus proche possible du pH que l'on souhaite maintenir.

5. Autres propriétés chimiques

Dues à la fonction -COOH

Estérification

AA + Alcool => Ester + Eau

$$NH_2-\underset{R}{\overset{H}{C_\alpha}}-COOH + R'-OH \rightarrow NH_2-\underset{R}{\overset{H}{C_\alpha}}-\underbrace{\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-R'}_{\text{ester}} + H_2O$$

C'est une réaction pour séparer les AA des mélanges car les esters obtenus sont volatiles et peuvent être alors distillés.
Réaction utilisée pour protéger la fonction -COOH lors de la synthèse de peptides.

Réaction de Décarboxylation

AA => Amine + CO2

$$NH_2-\underset{R}{\overset{H}{C_\alpha}}-COOH \rightarrow NH_2-\underset{R}{\overset{H}{C_\alpha}}-H + CO_2 \nearrow$$

Exemple: Lysine décarboxylase = enzyme.
Les amines formées peuvent être toxiques.
Lysine => cadavérine (lors de la putréfaction)

Amidification

AA + Amine => Amide + Eau

$$NH_2-\underset{R}{\overset{H}{C_\alpha}}-COOH + NH_2-R' \rightarrow NH_2-\underset{R}{\overset{H}{C_\alpha}}-\underbrace{\overset{O}{\overset{\|}{C}}-NH}_{\text{amide : liaison peptidique}}-R' + H_2O$$

Dues à la fonction -NH2

Désamintation oxydative

$$COOH-\underset{R}{\overset{H}{C_\alpha}}-NH_2 + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow COOH-\underset{R}{C_\alpha}=O + NH_3 \nearrow$$

Ex: TDA (Thryptohane Désaminase)

Transamination

C'est le transfert directe du groupe NH2 sur un acide alpha-cétonique sous l'action d'aminotransférase / de transaminase.
AA + Acide alpha-cétonique => Acide alpha-cétonique + AA

$$COOH-C_{\alpha}H(NH_2)-R + R'-C(=O)-COOH \rightarrow R-C(=O)-COOH + R'-CH(NH_2)-COOH$$

Dues au Radical

Fonction Alcool

Il s'agit d'une estérification comme précédemment mais l'AA est l'alcool et on lui ajoute un aicde.
Ex: synthèse du Phosphate.

Noyau phénol

Cycle benzénique + OH.

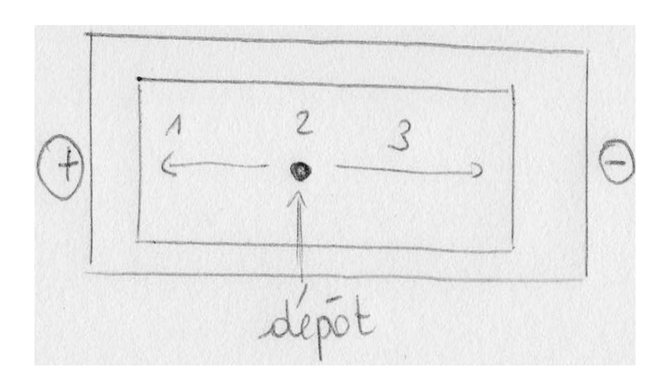
$$HO-C_6H_4-R + \frac{1}{2} I_2 \rightarrow I-C_6H_4-R$$

6.Méthodes de fractionnement / séparation des AA

Ces méthodes ont pour but de séparer les AA d'un mélange. Les deux méthodes les plus utilisées sont: l'électrophorèse et la chromatographie.

Électrophorèse

Il s'agit d'une technique basée sur la séparation des AA selon la charge en fonction d'un pH donné.
Sur un support on effectue un dépôt du mélange. On place ce support dans un cuve contenant une solution tampon à un pH donné. On applique à chacune des bornes de la cuve, une charge différente cela créant donc un champ électrique.



+: pH < pHi

neutre: pH = pHi

- : pH > pHi

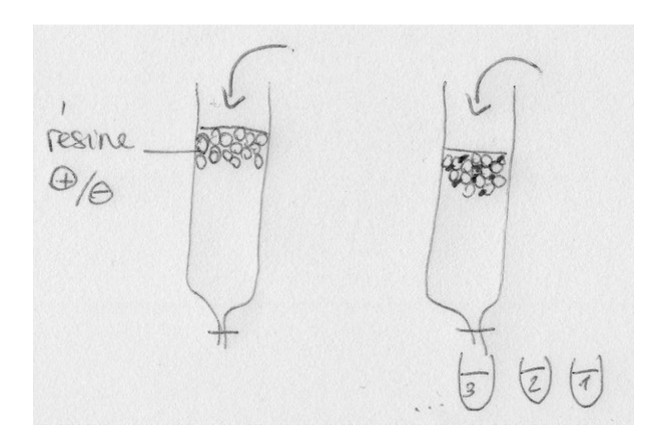
Les AA migrent sur le support, sous l'effet du champ électrique. Suivant leur pHi et le pH de la solution tampon, ils migreront vers l'anode ou la cathode ou ne migreront pas du tout.
Après migration on peut effectuer une révélation à la ninhydrine. Le résultat est une « électrophorégramme ».
La migration est d'autant plus rapide que la différence entre le pH de la solution et le pH des AA est forte.

Chromatographie

Il s'agit d'une technique de séparation utilisant deux phases: une phase fixe (= stationnaire) et une phase mobile.
La phase mobile peut-être liquide ou gazeuse; la phase fixe peut-être liquide ou solide.
Des interactions physico-chimiques s'établissent entre la phase fixe et les molécules à séparer.
Ces réaction dépendent de la nature des AA.
Lors de la chromatographie, chaque molécule sera soumise à une force de rétention vis-à vis de la phase fixe, et d'une force d'entrainement vis-à-vis de la phase mobile.
La résultante de ces deux forces varie d'un AA à l'autre. Chacun migrera donc à une vitesse qui lui est propre. On parle de « migration différentielle ».

Chromatographie « Echangeuse d'ions »

Elle tient compte des différentes charges des AA.



On remplit la colonne avec la résine chargée. Le mélange d'AA est placé à la surface de la résine. Ce mélange est caractérisé par un pH donné. A ce pH, les AA du mélange peuventêtre, selon leur pHi, chargés + ou – ou neutre.

Tableau récapitulatif des 20 acides aminés naturels

Glycine (Gly)

Acide aspartique (Asp)

Alanine (Ala)

Asparagine (Asn)

Valine (Val)

Acide glutamique (Glu)

Leucine (Leu)

Glutamine (Gln)

Isoleucine (Ile)

Phenylalanine (Phe)

Serine (Ser)

Tyrosine (Tyr)

Threonine (Thr)

Tryptophane (Trp)

Cysteine (Cys)

Histidine (His)

Methionine (Met)

Lysine (Lys)

Proline (Pro)

Arginine (Arg)

Les vingt acides aminés naturels terrestres

Solutions tampons

Bien appliquer toujours la même démarche de démarrage de l'exercice :

Identifier le couple AH/A- : Écrire l'équation de dissociation de AH correspondante caractérisée par le pKa donné et écrire la relation d'Henderson Hasselbach (Rappel : Les concentrations [A-] / [AH] sont les concentrations de ces espèces dans la solution tampon !).

Identifier, parmi les 3 méthodes décrites en classe, quelle est celle qu'on utilise dans

cet exercice pour préparer le tampon: – Soit un apport direct de AH et de A- en mélange en proportions déterminées. – Soit un apport de AH et de OH- : Les OH- apportés sous forme d'une base forte (NaOH ou KOH) réagissent stoechiométriquement avec les AH pour former des A- ; La quantité

de A- formées dépend directement de la quantité de OH- ajoutés ; Les AH ayant réagi avec les OH-

, une partie a été consommée pour la transformation en A- . – Soit un apport de A- et de H+ : Les H+

apportés sous forme d'une acide fort (HCI ou H2SO4) réagissent stoechiométriquement avec les A-

pour former des AH ; La quantité de AH formée dépend directement de la quantité de H+

ajoutés; Les A- ayant réagi avec les H, une partie a été consommée pour la transformation en AH.

A partir de là, raisonner dans le cas particulier de chaque exercice proposé ...

Les Peptides

Peptides: composés naturels ou synthétiques issus de l'enchaînement limités d'AA entre eux par liaisons covalentes: les liaisons peptidiques.
Ce sont donc des polymères composés de monomères, les AA.
Si le nombre d'AA ≤ 10 = oligopeptide
10 ≤ AA ≤ 100 = polypeptide
AA ≥ 100 = protéine.

1. La liaison peptidique

Fonction de cette liaison

```
     R1 O      R2
     |  ||     |
NH3+ - C - C - N - C - COOH
     |      |   |
     H      H   H
```

Géométrie de la liaison

Cette liaison existe sous forme d'un mélange en équilibre de 2 formes mésomères.
Forme mésomère: forme développée de même composé différent par la nature de la disposition des liaisons entre les atomes consécutifs.
La liaison peptidique n'est pas stable, elle vacille entre deux formes; O et N se partagent les électrons. Cependant il s'agit d'une liaison très stable, dite « stabilité par résonance ».
Par ailleurs, cette disposition électroniques au niveau de la liaison peptidique, entraîne l'impossibilité d'une rotation autour de la liaison C-N. Cela définit un plan comportant 6 atomes. En revanche, les Carbones alpha sont en « trans » par rapport à la liaison C-N, ce qui définit une ligne brisée.

2. Structure primaire des peptides

Nommer un peptide

On commence à nommer le 1er AA (en N-terminal) en ajoutant le suffixe « yl », puis on nomme les suivants dans l'ordre, tous porteurs de ce même suffixe. On termine par l'AA en C-terminal sans suffixe.
Ex: N-ter Gly – Ser – Val – Asn C-ter
4- Glycyl – Seryl – Valyl – Asparagine
Pour les oligopeptides, on rajoute un préfixe désignant le nombre d'AA qui le composent.

Distinguer composition et séquence

Composition: nom et nombre d'AA constituants la peptide.
Séquence: ordre dans lequel les AA sont disposés.

Technique de détermination de séquence (= séquençage)

Détermination de la composition en AA

Il y a 2 étapes:
– rompre les liaisons peptidiques soit par hydrolyse acide totale (Hcl à 6M) mais le problème est que cela détruit le Tryptophane et les Gln et Asn sont transformés en Glu et Asp. Soit on utilise l'hydrolyse alcaline (NaOH à 2 à 4M), on obtient alors un mélange d'AA qu'il faut séparer et identifier.
– Séparation des AA et dosage.

Détermination de la séquence

Ces méthodes font appellent à des réactifs chimique ou à des enzymes. Par ailleurs, elles analysent la chaîne soit par les extrémités (C ou N-ter), soit par l'intérieur de la chaîne.

Détermination par l'extrémité N-ter:

Technique Chimiques:
--> Méthode de Sanger

Peptide + DFB → (*milieu alcalin*) Dinitrophénylpeptide + HF
↓
isolé, purifié, hydrolysé
↓
(AA)n-1 + celui en N-ter
= DNP-AA1

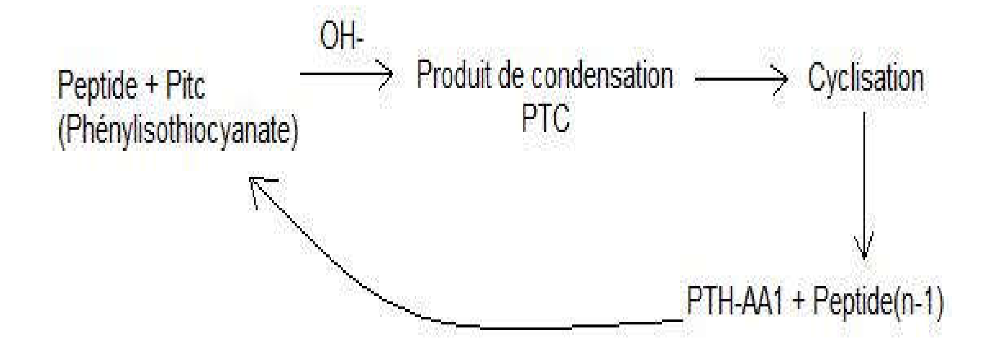
Ici on ne peut identifier que le 1er AA, le reste de la molécule et perdue lors de l'hydrolyse.

--> Méthode de Dansylation

Peptide + Chlorure de Dansyl → Dansyl-peptide + HCl
↓
isolé, purifié, hydrolysé
↓
(AA)n-1 + Dansyl-AA1
→ *dosage*

Mais ici on identifie toujours que le premier AA.

--> Méthode d'Edman



On peut identifier et doser le PTH-AA1.
Cette méthode est dite récurrente car elle conserve la chaîne peptidique, donc on peut refaire la dégradation.
=> « Dégradation récurrente d'Edman ».

Techniques Enzymatiques
On fait agir des exopeptidases.
Exopeptidase = enzyme qui dégrade les peptides par les extrémités. Il existe donc les aminopeptidase, coté N-ter, mais également les carboxypeptidases, coté C-ter.

Détermination par l'extrémité C-ter:

Techniques Chimiques:
Hydrazinolyse: en milieu anyhdre, en présence d'un réactif hydrazine (NH2 – NH2). Cette hydrazine libère l'AA-Cter.

Techniques Enzymatiques:
On fait agir des carboxypeptidases.

Détermination de la séquence dans son ensemble:

Des actions de plusieurs enzymes ou réactifs chimiques de spécificités différentes sont indispensables pour pouvoir fragmenter le peptide en plusieurs endroits. Ces informations, recoupées entre elles permettront de déterminer la séquence globale du peptide.

Fragmentation du peptide à l'intérieur de la chaîne:

Techniques Chimiques:
--> Bromure de Cyanogène
Il n'agit qu'au niveau de la Méthionine en coupant la liaison peptidique qui inclut le COOH de cet AA.
Il coupe après la Methionine. Celle-ci est alors transformée en Homosérine lactone.

--> N-bromosuccinimide
Il coupe les liaisons peptidiques incluant le COOH de la Tyr ou du Tryptophane.

Techniques Enzymatiques:
On fait agir des endopeptidase: protéases qui coupent les protéines au sein même de leur séquence.
Leur action est spécifique, cad qu'elles ne coupent qu'à un certain niveau.

Coupures des ponts S-S éventuels

Celon les cas, on peut-être amenés à rompre les ponts disulfures pour établir la séquence en particulier lorsque le peptide est composé de plusieurs chaînes rattachées entre elles.
Cela va permettre de séparer les chaînes afin d'établir spécifiquement leur séquence.

Mise en ordre des fragments obtenus:

Il est intéressant de déterminer la structure primaire d'un peptide car cela permet d'anticiper sa fonction.
Par exemple une succession d'AA hydrophobes suggère un possible encrage de ce peptide dans une membrane biologie. On peut également deviner un site actif enzymatique.
Tous les résidus d'une chaîne peptidique n'ont pas la même importance. Certains sont indispensables à la fonction de la protéine, dans ce cas ils sont conservés à travers les espèces. D'autres, moins utiles servent de variabilité entre les espèces.

3. Propriétés physico-chimiques des peptides

Propriétés physiques

Elles dépend de la nature des AA consécutifs.
-> pouvoir rotatoire car C asymétrique.
-> absorbe dans l'UV (180 à 230nm)
si AA aromatiques, alors absorbe aussi à 280nm = propriété importante lors des dosages.

Propriétés chimiques

Leur solubilité varie selon leur taille et leur composition en AA. Ils sont amphotères en fonction de leur pH (en fonction de la composition en AA).
Capacité de la liaison peptidique de former des complexe avec des cations bivalents, comme le Cuivre Cu^{2+} par exemple.
Ex: réaction de Biuret en milieu alcalin, le cu^{2+} du Biuret forme un complexe ce qui produit une couleur violette dosable au spectrophotomètre.
Il existe le réactif de Folin qui lui est spécifique de la Tyrosine.

LA SYNTHESE PEPTIDIQUE EN PHASE SOLIDE

L'engouement relatif aux peptides est né dès la fin des années 60, quand est apparu la possibilité de synthétiser chimiquement à façon de grandes quantités de peptides.

En effet, l'identification de peptides à activité biologique est à la base du développement de nombreuses thérapies: de nombreux peptides naturels ont été caractérisés et portent des activités biologiques très diverses. Citons par exemple: les hormones, les inhibiteurs d'enzymes, les facteurs de croissance, les neurotransmetteurs, les immunomodulateurs...

Le peptide de synthèse est promis à un bel avenir: c'est un outil de choix pour des applications aussi diverses que nombreuses dans les domaines de la biologie moléculaire, de la biochimie, de la médecine, du diagnostic et du développement de vaccins et de nouveaux

médicaments Le peptide est, soit utilisé directement pour ses propriétés pharmacologiques, soit pour permettre d'approfondir la compréhension des mécanismes biologiques dans lesquels il intervient.

De façon très schématique, les principales applications développées avec les peptides synthétiques ont pour objectif d'imiter les caractéristiques de portions d'une protéine beaucoup plus longue Des petits fragments sélectionnes de la protéine sont synthétisés et testés dans des essais biologiques. Cette approche vise à déterminer les sites actifs des protéines: les sites récepteurs, les sites effecteurs et activateurs, les sites de fixation Les divers sites fonctionnels d'une protéine sont ainsi accessibles. Cependant, alors que l'intérêt du peptide a été validé en recherche, les applications cliniques restent encore limitées Une raison essentielle est leur rapide dégradation in vivo par les peptidases. A contrario, le peptide présente l'énorme avantage de ne pas générer de métabolite toxique.

Différentes méthodologies sont utilisées pour le développement de "peptides médicaments" Grâce à la modélisation moléculaire, les acides aminés peuvent être remplacés par des résidus "exotiques", les liaisons chimiques entre résidus peuvent être remplacées par des liaisons résistantes, ce qui permet de conserver les propriétés caractéristiques intrinsèques du peptide tout en augmentant son temps de demi-vie et/ou son affinité pour sa cible. De tels peptides pharmacomodulés seront la voie de développement de médicaments très sélectifs, basés sur les peptides déjà sélectionnés par la Nature.

Le développement de vaccins ou de tests diagnostics est un domaine où un très grand nombre de peptides sont utilisés.

La pharmacologie est une autre grande consommatrice de peptides: un grand nombre de peptides sont synthétisés et testés pour leur interaction avec un récepteur ou leur capacité à induire une réponse biologique.

Les séquences sélectionnées sont alors synthétisées avec diverses modifications guidées par la modélisation moléculaire qui permettent de déterminer les pharmacophores (les structures importantes pour l'activité pharmacologique).

La chimie des peptides: toujours un défi

Les peptides sont de petits fragments de protéines d'une taille comprise entre 2 et quelques dizaines d'acides aminés.

Les résidus d'acides aminés d'une chaîne peptidique sont reliés entre eux par la liaison peptidique,

une liaison amide (-CONH-). Ces liaisons sont formées de façon artificielle au cours de la synthèse chimique des peptides.

Les difficultés inhérentes à la synthèse peptidique proviennent de la structure même de leurs constituants de base, les acides aminés, qui portent des radicaux aux propriétés physicochimiques très diverses.

Il existe 20 acides aminés naturels qui se différencient par leur chaîne latérale R: dimension, forme, charge, capacité à former des liaisons hydrogène, hydrophobicité, et bien sûr réactivité chimique.

Pour former la liaison peptidique entre 2 acides aminés successifs dans la séquence désirée, avec le départ d'eau, il faut utiliser un agent de déshydratation.

La réalité est pourtant bien différente. Dans une telle réaction le dipeptide AA1-AA2 serait ultraminoritaire dans le mélange réactionnel, pour plusieurs raisons:

• Si l'on ne bloque pas la fonction H2N de AA1 et la fonction COOH de AA2, on forme aussi bien AA1-AA2 que AA2-AA1 et encore AA1-AA1, AA2-AA2...

• Si l'on ne bloque pas les fonctions réactives éventuellement portées par R1 et R2, il se formera aussi des branchements latéraux de diverses manières.

Il est donc nécessaire d'utiliser des groupements protecteurs si l'on veut obtenir un seul produit.

Notons que la synthèse chimique des peptides a lieu dans le sens contraire de la synthèse biologique, la raison est fort simple: la nature sait activer la fonction aminé (NH2) lors de la formation des aminoacyltRNA, le chimiste ne sait qu'activer la fonction carboxyle (COOH) par formation d'un ester.

Avant de pouvoir synthétiser un peptide, les problèmes à résoudre par les organiciens ont donc été les suivants.

• Disposer d'une stratégie d'activation de la fonction -COOH de l'acide aminé à introduire dans le peptide, qui permette des rendements de couplage supérieurs à 99,99%. En effet, le rendement en produit final décroît exponentiellement avec le nombre d'étapes de couplage: si le rendement n'est "que" de 90% à chaque couplage, (ce qui est déjà excellent pour une réaction organique) au 15ème AA, le rendement final sera (0.915) soit 20%.

• Disposer de groupements protecteurs des fonctions latérales -OH. -SH, -COOH, -NH2, -HN-(C=N)-NH2, -NH-, et savoir les enlever spécifiquement avec une efficacité proche de 100% à la fin de la synthèse du peptide

• Disposer de groupements protecteurs de la fonction -NH2 à engager dans la prochaine liaison peptidique, et savoir les enlever spécifiquement entre chaque étape de couplage, là aussi avec un rendement quantitatif, sans toucher aux protections latérales

Ce n'est pas tout: pour arriver au produit final, il faut être capable à chaque étape de couplage de débarrasser le peptide en croissance des réactifs mis en excès, des groupements protecteurs d'aminé clivés, et autres produits indésirables. Deux approches sont utilisables: synthèse en phase liquide, avec purification du peptide entre chaque étape, et synthèse sur support solide (résine polymère) où la séparation se fait par simple rinçage parés les étapes de couplage et de clivage de la protection intermédiaire.

Chacune de ces méthodes a ses avantages et inconvénients La synthèse en phase liquide est longue et fastidieuse (au minimum, deux AA par jour) mais elle peut travailler sur des quantités très importantes, de plus la purification intermédiaire garantit du produit final très propre

La synthèse sur support solide est beaucoup plus rapide, elle est automatisable entièrement, mais reste limitée en quantité à quelques grammes de peptide par synthèse. Elle est plus exigeante au point de vue des rendements de couplage et déprotection intermédiaires, car l'on conserve sur la résine toutes les ratées de couplage II faut donc des rendements excellents. Il faut aussi disposer d'un support adéquat pour l'élongation du peptide, et être capable de cliver le peptide de la résine en fin de synthèse.

La suite de notre propos sera consacrée à la mise en oeuvre de la synthèse en phase solide:

Synthèse en phase solide:

Dans une série d'articles de 1962 à 1964, R.B MERRYFIELD à posé les bases de cette stratégie, qui s'est depuis très largement imposée Le principe général est depuis resté le même, mais des améliorations techniques à tous les niveaux l'ont rendue très praticable.

Le cycle d'addition commence par la déprotection de la fonction aminé du peptide en croissance, puis l'addition de l'AA suivant activé, ce qui donne un peptide protégé augmenté d'un aa, prêt pour un nouveau cycle. La force de la synthèse sur support solide réside dans les lavages.

Lorsque le peptide complet est assemblé, le dernier AA est déprotégé, puis les protections latérales sont enlevées et le peptide est clivé du support (ces deux dernières opérations peuvent se faire de façon concomitante) Le peptide libre est purifié, puis caractérisé.

Les Protéines Structures et Propriétés

Les protéines sont des macromolécules aux fonction très différentes, qui jouent des rôles essentiels dans de nombreux processus physiologiques (ex: Enzymes, Anticorps, Récepteurs, ..). Leurs fonctions sont initialement liées à leur structure dans l'espace.

1. Conformation spatiale des protéines

La conformation spatiale d'une protéine résulte de 3 ou 4 niveaux de structures indépendantes.

Structure Primaire

Elle correspond à la séquence en AA dans un ordre déterminé. Sa conformation est liée à la géométrie de la liaison peptidique.
=> agencement linéaire des AA entre eux.

Structures Secondaires

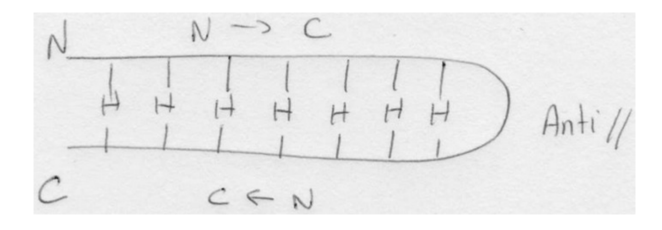
Ces structures sont dues aux replis qu'adopte la chaîne peptidique sous l'effet de multiples liaisons hydrogènes qui s'établissent entre différents groupements -CO et -NH de son squelette.

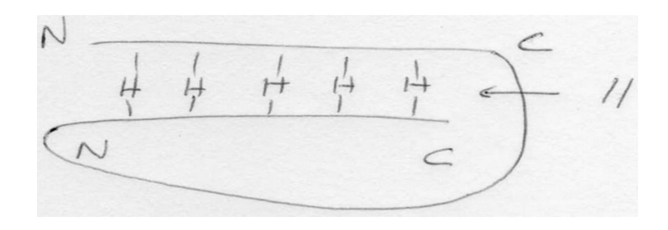
Hélice alpha

Hélice à spires (enroulement) régulières. Le pas de l'hélice est de 0,54nm, soit 1 Angström: c'est la distance entre deux boucles. Cela correspond à 3,6 résidus (toutes les 10 spires il y a 36 résidus). L'hélice peut-être droite, cad tourne dans le sens des aiguilles d'une montre. Certains AA déstabilise l'hélice alpha du fait de leur structure. Certain empêche la formation de l'hélice alpha comme la proline (donc pas de Pro dans une hélice alpha).

Feuillet bêta

Les liaisons hydrogènes sont perpendiculaire à l'axe de la molécule. Les chaines peptidiques sont disposées soit de façon parallèle soit de façon anti-parallèle.





Les chaines latérales (celles des radicaux) se placent au-dessus ou en dessous du plan.
Cette structure est moins fréquente que l'hélice alpha car elle est moins stable.

Remarque: la chaine peptidique adopte dans une région données soit une structure en hélice alpha soit en feuillet bêta selon la nature des AA impliqués.
En effet, certains AA, de part leur charge ou leur encombrement stérique favorise ou non ces structures.
La proline, par sa structure cyclique atypique participe souvent à l'élaboration de la structure secondaire et de la structure tertiaire en créant des courbures de la chaine entre les motifs d'hélices et de feuillets.

Structures Tertiaires

La conformation générale d'une protéine dans l'espace s'appelle structure tertiaire.
Elle correspond à l'agencement des structures secondaires entre elles. Les liaisons qui interviennent dans le maintient de cette structure sont multiples.
– liaisons fortes = covalentes = ponts disulfures S-S entre deux cystéines.
– liaisons faibles = hydrogènes, ioniques, hydrophobes.
Conséquences: rapprochement dans l'espace des AA parfois éloignés dans les structures primaires.
La structure tertiaire est à l'origine de la forme globale de la protéine native. Elle va permettre à la protéine de former dans l'espace des « domaines » indispensables à sa fonction (par ex un site actif pour une enzyme).

Structures Quaternaires

Ne concerne que les protéines constituées de plusieurs chaines peptidiques appelées sous-unités ou protomères, par ex l'hémoglobine.
=> agencement en 3D des protomères entre eux.
Remarque: « Protéines Chaperonnes » = protéine qui va induire le rapprochement de certains AA dans l'espace d'une protéine en cours de synthèse.
Elle participent aussi au passage de certaines protéines d'un compartiment cellulaire à un autre en maintenant sous forme linéaire la protéine en question.

2. Dénaturation des protéines

Définition

La dénaturation est une désorganisation des structures secondaires, tertiaires, et quaternaires par ruptures des liaisons faibles et/ou des ponts disulfures.
Mais dénaturation ≠ dégradation: il n'y a pas de rupture de la liaison peptidique lors de la dénaturation donc la structure primaire est conservée.

Étape de la dénaturation

La 1ère étape est réversible, on peut revenir à l'état natif. Il y a rupture des liaisons faibles et/ou des ponts disulfures. Si on supprime l'agent dénaturant, la protéine peut retrouver son état initial en recréant ses liaisons.
La 2nde étape est irréversible: la protéine va être sujette à la création de nouvelles liaisons faibles.

Conséquences de la dénaturation: il y a perte de la fonction biologique. Il peut y avoir des variation de la solubilité, des variation de propriétés physico-chimiques....

Les agents dénaturants

Physiques

T°C, pH, radiations, agitations, ...

Chimiques

Urée qui détruit les liaisons hydrogènes, BetaMercaptoEthanol qui détruit les liaisons S-S, le SDS Sodium DodecylSylfate.

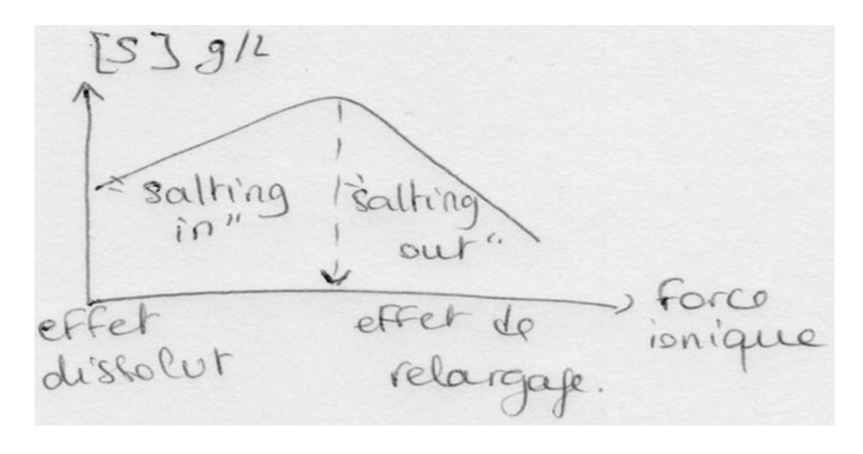
3. Propriétés des protéines

Solubilité

Elle se définit par la quantité maximale de protéine pouvant se dissoudre dans 1L de solvant.
Les protéines sont insolubles dans des solvants organiques et leur solubilité dans l'eau dépend de leur composition en AA ainsi que de la séquence des AA.
De nombreux facteurs influencent la solubilité d'une protéine donnée.

Force ionique de la solution

Il s'agit de l'influence de la concentration en sel de la solution.



Effet dissolvant: les ions du sels réduisent les attractions existantes entre plusieurs molécules de protéines. Ceci facilite leur dispersion (évite leur agrégation) et donc augmente leur solubilité.
Effet de relarguage: il se créé, au-delà d'une certaine concentration en sel, une compétition vis à vis des molécules d'eau entre les ions du sels et ceux de la protéine. Les molécules de protéine se retrouvent donc déshydratées, elles ont alors tendance à s'agréger et à précipiter. Phénomène réversible par dilution.

Le pH

Le minimum de solubilité d'une protéine est atteint quand le pH du milieu atteint le pHi de la protéine.

Influence des solvants organiques

L'utilisation de solvants organiques somme l'éthanol ou l'acétone insolubilise les protéines.

Propriétés optiques

Les solutions protéiques absorbent et diffusent la lumière. Les propriétés optiques sont en rapport avec la concentration de la solution, avec la taille et la forme des molécules. Ces propriétés sont importantes pour l'étude et le dosage des protéines.

On peut également déterminer les caractéristiques géométrique d'une protéine par diffusion de la lumière.

Propriétés osmotiques

Les protéines ne sont pas dialysables car elles ne diffusent pas, notamment du à leur taille, au travers de membrane perméable.
Les protéines développent une pression osmotique qui intervient dans les échanges cellulaires ou dans les échanges des secteurs hydriques de l'organisme.

Propriétés d'ionisation

Toute protéine possède une nombre important de groupements ionisables caractérisés par leur pK. Ces propriétés sont à la base des techniques de séparation et de caractérisation des protéines (électrophorèse ou chromatographie).

4. Classification

On distingue 2 grands groupes:
– les « holoprotéines » qui sont constitués que d'AA
– les « hétéroprotéines » qui comportent d'une part une ou plusieurs chaine polypeptidiques, d'autre part un groupement non-protéiques dit groupement prothétique.

Les holoprotéines

Les globulaires

Ce sont des protéines qui en 3D ont une forme arrondie comme par exemple l'albumine, les histones (protéines basiques autour desquelles s'enroulent l'ADN pour former la chromatide), lysozyme, insuline, ...

Les fibreuses

Protéines étirées. Il s'agit généralement de protéines strucuturales comme par exemple: le cytosquelette, la matrice extracellulaire, la fibrine, la kératine, la lactine, myosine, collagène, éllastine, ...

Les hétéroprotéines

Par exemple: les phosphoprotéines, les sulfoprotéines, les glycoprotéines, les lipoprotéines...

Protéines
Techniques d'extractions et de caractérisations d'une protéine.

But: étudier une protéine donnée.
Différentes étapes: extraction de la protéine souhaitée à partir d'une source biologique
Isolement de la protéine d'intérêt
caractérisation de cette protéine (= structure, fonction biologiques, caractéristiques physico-chimiques)

1. L'extraction

Si la protéine se trouve dissoute dans un milieu biologique liquide (ex: plasma, lait, ...) aucune méthode d'extraction n'est nécessaire. Si la protéine est à extraire d'un tissus ou d'une culture de cellules, 3 méthodes sont possibles:
A partir du tissus entier: On choisit un matériel tissulaire que l'on sait riche en cette protéine. On le broie grâce à l'appareil de Potter. L'éclatement des cellules est achevée par choc osmotique ou encore par sonication ce qui va lyser les membranes des cellules. Pour ne pas dénaturer les protéines, on travaille en milieu tamponné et à 0°C (glace): on obtient enfin un homogénat cellulaire. On élimine ensuite les débris cellulaires par centrifugation. On facilite la solubilisation des protéines dans des solutions salines et on obtient alors un extrait brut.
A partir d'un type cellulaire isolé à partir du tissu. On utilise pour cela un trieur de cellules (généralement cytofluorimètre). Des Ac reconnaissent spécifiquement une population cellulaire et vont la marquer grâce à un fluorochorme auquel il sont couplés. L'appareil sélectionne donc des cellules fluorescentes.
A partir d'un organite particulier: on effectue alors un fractionnement cellulaire, cad qu'on sépare les différents constituants de la cellule grâce à l'ultracentrifugation = sédimentation accélérée. L'accélération (= la pesanteur) est remplacée par une accélération centrifuge (γ) qui est développée par un rotor tournant à grande vitesse angulaire (ω). On obtient alors une force centrifuge (F).
La tendance d'une particule à se déplacée dans une solution sous l'effet de la force centrifuge est donnée par un coefficient de sédimentation (s). Les molécules sphériques et de petites tailles ont un faibles coefficient de sédimentation.
=> centrifugation différentielle = succession d'ultracentrifugations pour lesquelles on fait varier la durée et la vitesse de rotation.

2. Précautions à prendre lors de la préparation des protéines purifiées

Dénaturation

Généralement on isole une protéine pour utiliser et étudier ses propriétés biologiques or on sait que celles-ci sont étroitement liées au maintient de la forme native de la protéine en question. Il faut donc veiller à la stabilité de celle-ci tout au long des traitements en contrôlant notamment la température, le pH, la force ioniques, ... afin de ne pas rompre les liaisons faibles.

Conservation

On veut éviter que la protéine soit dégradée par des protéases c'est pourquoi on travaille souvent à +4°C et avec des inhibiteurs de protéases.
A plus long terme on peut procéder à une congélation (de -20°C à -80°C). On peut également utiliser l'Azote Liquide (-196°C).
On peut aussi faire de la lyophilisation: technique qui permet d'éliminer l'eau, on obtient l'échantillon sous forme déshydratée.

Dessalage

On utilise un boudin de dialyse: c'est une membrane poreuse aux petits diamètres qui permet la diffusion uniquement des sels. Cela permet donc de dessaler la solution.

3. Principales techniques de séparation et caractérisation des protéines

Les protéines sont purifiées à partir de leurs propriétés particulières: solubilité, charge ionique, taille, affinité...

Solubilisation et précipitation des Protéines

La solubilité peut-être utilisée pour purifier certaines protéines car certaines sont solubles dans des conditions données alors que d'autres précipitent dans ces mêmes conditions.

Influence de la concentration en sel

Cette concentration est définie par la force ionique de la solution.

$I = \frac{1}{2} \Sigma (Ci . Zi)^2$

En amenant la concentration en sel de la solution protéique à une valeur toute juste inférieur à celle pour laquelle la protéine désirée précipite, on élimine une bonne partie des protéines non-voulues.
Suite à une filtration ou par une centrifugation, on peut alors précipiter la protéines d'intérêt en augmentant légèrement la concentration en sel, laissant ainsi une autre portion de protéine non-voulues en solution.

Influence des solvants organiques

On utilise des solvants organiques miscibles à l'eau comme l'acétone ou l'éthanol pour précipiter les protéines. Il existe deux exceptions: le DMSO = DiMéthylSulfOxyde et le DMF = DiMéthylFormamide = solvants que l'on utilise pour solubiliser les protéines.

Influence du pH

Les protéines possèdes de nombreux groupements ionisables dont les valeurs de pK sont différentes. Ainsi, comme pour les AA, les protéines possèdent une charge nette de 0 au pHi. Donc à ce pH les interactions avec les molécules de solvant sont réduites.

Séparation des protéines selon leur taille

Chromatographie par gel filtration

S'appelle aussi chromatographie par exclusion de taille.
Principe: des sphériques et poreuses remplissent une colonne de chromatographie. Ces billes peuvent être composées d'agarose, de polyacrylamide ou de dextran. Les billes ont de concentrations plus ou moins différentes donc le diamètre des pores varie. Le volume total de gel introduit dans la colonne (que l'on note VT) comprend le volume extérieur aux billes (V0), appelé « Volume Mort »; le volume libre des billes Vi; et le volume occupé par la matière constituant les billes Vg. Le volume d'élution Ve correspond au volume de phase mobile nécessaire pour récupérer un composé après son dépôt sur le gel.
Le volume mort V0 est déterminé par mesure du Ve d'un composé dont la masse moléculaire est supérieur à la limite d'exclusion de gel (cad taille minimale d'une protéine pour quelle soit exclue des billes).
Lorsque le mélange de composés passe à travers la colonne, les molécules se distribuent entre V0 et Vi en fonction de leur capacité à pénétrer dans le spores des billes (cad en fonction de leur taille). Plus les molécules sont grosses plus elles auront des difficultés à pénétrer dans les pores. Si la molécule est trop grosse, elle ne rentre donc pas dans les billes, elle est donc exclue en premier de la colonne et se retrouve dans les premières fractions d'élution.

Plus la molécule est petite plus elle pourra pénétrer dans les différents pores des billes ce qui va la ralentir dans la colonne et donc elle sortira après une volume plus important d'élution.
Si la molécule peut entrer dans les pores du gel, sa répartition entre les phases externes et les phases internes est donnée par un coefficient dit « coefficient de distribution »

KD = (Ve – V0) / Vi

La chromatographie est terminée lorsqu'un volume de solvant a traversé la colonne. Le volume d'élution est proportionnel à la masse moléculaire de la protéine. Donc on peut tracer une droite d'étalonnage avec des protéines de poids moléculaires connues (pour faire une gamme).

Electrophorèse SDS-Page

SDS: Sodium DodécylSulfate
PAGE: PolyAcrylamideGEl
Les SDS possède une longue queue hydrophobe qui se termine par un groupement sulfate de charge négative. La longue queue hydrophobe interagit avec les chaînes protéiques. Le nombre de molécules de SDS liées à la protéine est proportionnel à la longueur de la protéine.
Les charges négatives apportées par le SDS favorise la migration du complexe [Protéine – SDS] vers l'électrode +. Collectivement l'ensemble chargé négativement est très largement supérieur à la charge propre de la protéine donc toute les protéines vont être chargée – fortement.
Le SDS est aussi un détergent; il détruit donc les structures quaternaires et tertiaires des protéines.
Cette électrophorèse est généralement effectuée en présence d'un agent réducteur: le bêta-mercaptoéthanol (βME).
La mobilité des protéines est inversement proportionnel à sa masse moléculaire donc on peut également faire une droite d'étalonnage qui relie distance de migration au poid moléculaire.

Séparation selon la spécificité de leur liaison

Chromatographie d'affinité

Dans le cas où l'on veut isoler une protéine ayant une affinité particulière pour un ligand, le ligand fixé par liaison covalente sur un support insoluble. Au cours de la chromatographie, la protéine sera fixée au ligand et sera retenue sur la colonne. Un simple lavage récupère les protéines contaminantes non fixées. Pour récupérer la protéine d'intérêt, on utilise une solution contenant le ligand soluble en forte concentration. Cela va permettre la dissociation et l'élution de la protéine voulue.

Séparation en fonction de la charge

Chromatographie échangeuse d'ions

Electrophorèse

Elle est caractérisée par le déplacement de molécules chargées dans un champs électrique. La vitesse de déplacement d'une molécule dépend du potentiel du champs électrique (noté E), de la charge de la protéine (notée q) et de son coefficient de friction (noté f).

V = (E . q) / f

f = mesure de la résistance que la solution exercée sur la molécule qui se déplace, cela dépend de la taille, de la forme de la protéine et de la viscosité du gel. Ainsi chaque protéine se déplace à une vitesse spécifique constante.

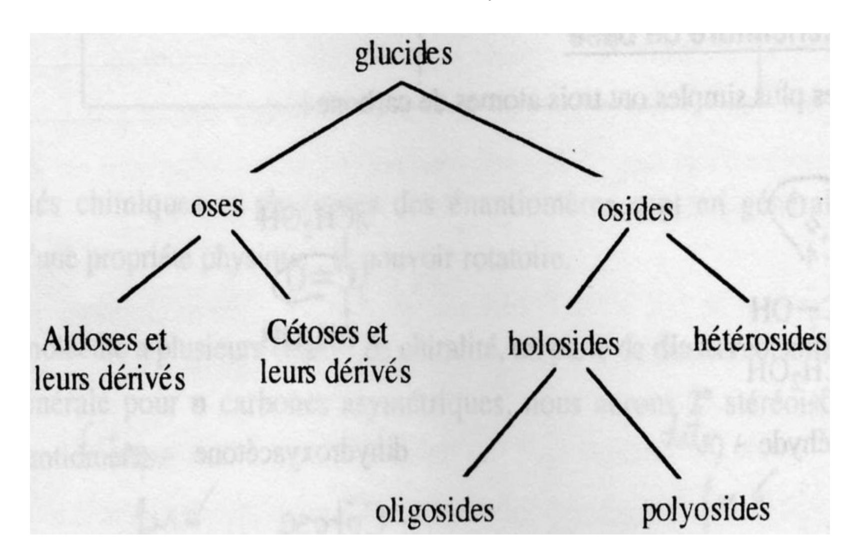
4. Caractérisation quantitative et qualitative de la purification

Établir un protocole de purification, c'est sélectionner et enchainer plusieurs techniques d'extraction et d'isolement.
A chaque étape de purification, il est nécessaire d'établir un test permettant de suivre la purification. Ce test doit être spécifique, doit être reproductible, et doit être d'une grande praticabilité (réalisation rapide).
A partir de ce test on détermine 2 grandeurs qui sont des critères appréciants l'intérêt de la purification.
Quantitatif: avec une notion de rendement:
R = (activité totale de la fonction purifiée) / (activité totale de l'extrait brut) x 100
Qualitatif: taux, degrés de purification
Degrès de Purif = activité spécifique de la fonction purifiée / activité spécifique de l'extrait brut
L'activité spécifique est le rapport de l'activité biologique sur la quantité totale de protéine de cette fonction.
Différentes techniques se succèdent dans un protocole de purification; il faut donc sans cesse réaliser un compromis entre ces deux critères. En effet il ne faut pas trop perdre d'activité biologique tout en enrichissant les fractions obtenues en la protéine voulue.

Les Glucides

1. Définition

Les glucides ou encore appelés hydrates de carbone à cause de leur formule générique de base Cn(H2O)n, sont des molécules organiques caractérisées par la présence de chaînons carbonés porteurs de groupements hydroxyles, et de fonctions aldéhydes ou cétoniques, et éventuellement de fonctions carboxyle ou aminé. Ils se divisent en oses et osides.



Ose: appelé aussi sucre simple ou monosaccharide.
- Il est non hydrolysable et porte la plupart du temps, de 3 à 7 atomes de carbone.
- C'est un polyol qui porte au moins 2 fonctions alcools dont l'une au moins est une fonction alcool primaire, et une fonction réductrice carbonylée, soit:
- aldéhyde (-CHO) dans ce cas l'ose est un aldose
- ou cétone (>C=O) dans ce cas l'ose est un cétose.

Oside: sucre hydrolysable, il peut être:
- holoside : son hydrolyse ne libère que des oses. On distingue les:
- oligoside : association de 2 à 10 oses par des liaisons osidiques
- polyoside : polymère formé de 10 à plusieurs milliers d'osés dont:
--> polyoside homogène (ou homopolyoside) pour un polymère d'un même ose
--> polyoside mixte (ou hétéropolyoside) pour un enchaînement d'unités différentes
- hétéroside : son hydrolyse libère des oses et des composés non glucidiques (aglycone).

Des chaînes glucidiques peuvent être fixées, par voie chimique ou enzymatique, sur des lipides ou des protéines : ces dérivés sont regroupés sous le terme de glycoconjugués.

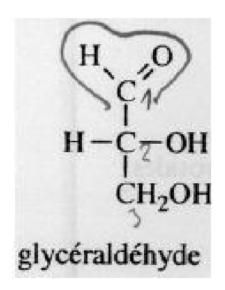
Exemples

L'ose le plus répandu est un aldohexose : le glucose. Son isomère de constitution est une cétohexose: le fructose ou lévulose.
Citons comme diholosides (ou disaccharides) le maltose, le saccharose, le lactose. L'amidon, le glycogène, la cellulose sont des polyosides (ou pojyjaccharides).

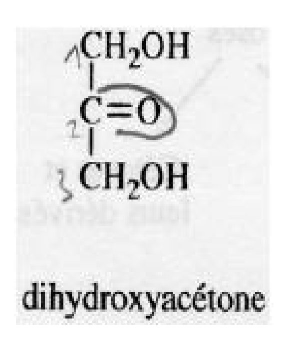
2. Les Oses

Nomenclature de base

Les oses les plus simples ont trois atomes de carbone:



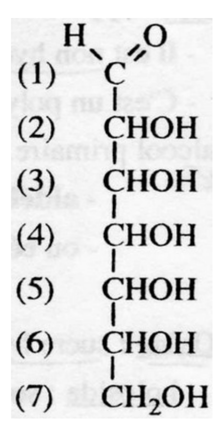
Aldose



Cétose

Les atomes de carbones sont numérotés à partir du carbonne le plus oxydé.

Nb C		Nom générique
3	tri oses	aldotrioses, cétotrioses
4	tétroses	aldotétroses, cétotétroses
5	pentoses	aldopentoses, cétopentoses
6	hexoses	aldohexoses, cétohexoses
7	heptoses	aldoheptoses, cétoheptoses



Exemple: le glucose est un aldohexose, le fructose un cétohexose.

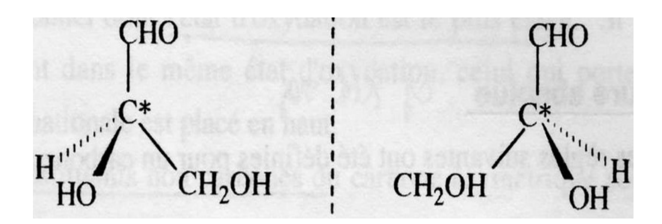
Centre de chiralité: isomérie

Objet chiral: tout objet qui ne peut pas être superposé à son image dans un miroir est un objet chiral.

Cette définition s'applique aux molécules.
Si n est le nombre de carbone, le nombre de centre d'asymétrie N est de
- N=n-2 pour les aldoses
- N=n-3 pour les cétoses.
Le nombre de stéréoisomères est de 2^N.

Stéréotsomère: énantiomère

Dans la molécule de glycéraldéhyde, le carbone C2 portant quatre substituants différents est dit asymétrique; il est souvent noté C*. Deux configurations, non superposables mais images l'une de l'autre dans un miroir sont possibles : nous sommes en présence de deux stéréoisomères, appelés énantiomères.



Les propriétés chimiques et physiques des énantiomères sont en général identiques à l'exception d'une propriété physique : le pouvoir rotatoire.
Lorsqu'une molécule a plusieurs centres de chiralité, on parle de diastéréoisomérie.
De façon générale pour n carbones asymétriques, nous aurons 2n stéréoisomères et 2n-1 couples d'énantiomères.

Pouvoir rotatoire

En solution, les formes énantiomères d'une molécule portant un carbone asymétrique présentent des propriétés optiques différentes. Elles sont douées d'une activité optique : chacune d'entre elles dévie de manière spécifique le plan de polarisation d'une onde monochromatique polarisée. Le plan de polarisation est dévié d'un angle égal en valeur absolue mais de sens inverse. Cette propriété est caractérisée par le pouvoir rotatoire spécifique:

$$[\alpha]^t_\lambda = \frac{\alpha}{lc}$$

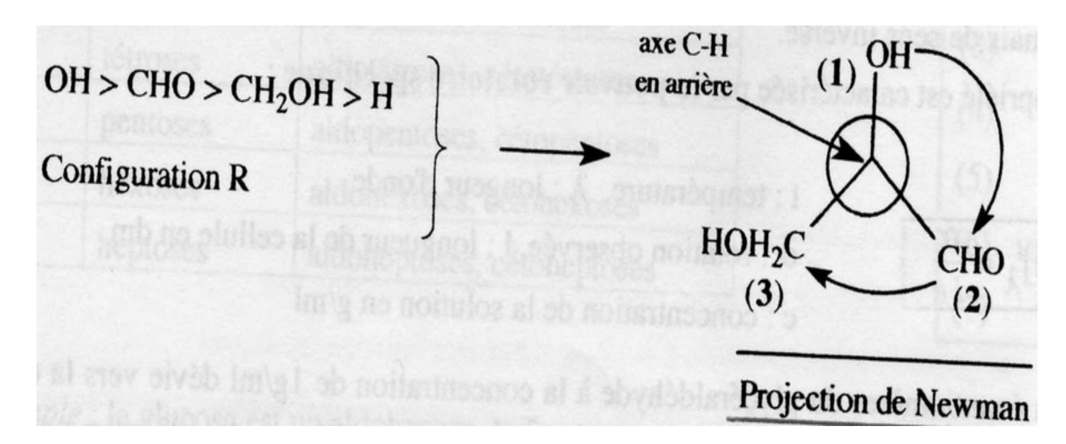
t: température, lamda: longeur d'onde
a: rotation observée, l: longueur de la cellule en dm
c: concentration de la solution en g/ml

L'un des énantiomères du glycéraldéhyde à la concentration de 1g/ml dévie vers la droite le plan de polarisation d'un faisceau monochromatique (X = 570nm) de 14° pour un chemin optique de 10 dm à une température de 20°C. Cet énantiomère est une substance dextrogyre, il est noté (+). L'autre énantiomère est dit lévogyre (-). Ces deux énantiomères sont aussi appelés isomères optiques.
Un mélange équimolaire de deux énantiomères est optiquement inactif : il est noté racémique.
Remarquons que le cétotriose (dihydroxyacétone) n'a pas de carbone asymétrique et donc aucune activité optique. Il se présente sous une seule forme et il faut passer à un cétotétrose pour avoir deux formes énantiomères.

Histoire: c'est Pasteur, dans les années 1850-1860, qui sépare à l'aide de pinces deux types de cristaux d'acide tartrique (HO2CCHOHCHOHCO2H), chacun ayant des propriétés optiques rotatoires différentes.

Nomenclature absolue

La convention et les règles suivantes ont été définies pour un carbone asymétrique:
1- les quatre substituants sont classés dans un ordre de priorité (a > b > c > d). On vise l'atome suivant l'axe C -> d (projection de Newman). Si la séquence a, b, c se présente dans le sens des aiguilles d'une montre, la configuration de l'atome de carbone est R (rectus), dans le cas contraire elle est S (sinister).
2- le classement se fait selon l'ordre décroissant du numéro atomique de l'atome lié du substituant. Dans le cas d'égalité, le numéro atomique de l'atome voisin est alors utilisé.
3- lorsque l'atome est impliqué dans des liaisons multiples, celles-ci sont considérées comme "ouvertes" : on lui attribue comme substituant fictif son partenaire dans la liaison multiple.
Dans le cas du glycéraldéhyde, le classement donne l'ordre suivant et en conséquence la projection de Newman qui se présente sous la forme suivante est la configuration R:



Il n'y a aucune corrélation entre les configurations R ou S et la nature du pouvoir rotatoire, dextrogyre (+) ou lévogyre (-).

Représentation en projection de Fisher

Pour les oses comportant une plus longue chaîne carbonée et donc un plus grand nombre de carbones asymétriques, l'usage a consacré la représentation de Fisher qui est plus aisée à manipuler et à la place de la nomenclature absolue, la nomenclature D et L. La molécule est représentée dans un plan, par projection en respectant les règles suivantes:
1- le carbone asymétrique est placé dans le plan de projection (la feuille).
2- la chaîne carbonée la plus longue est verticale et en arrière du plan de projection.
3- l'atome de carbone placé en haut de la chaîne verticale est celui qui est engagé dans le groupement fonctionnel dont l'état d'oxydation est le plus élevé. Si les atomes de carbone aux extrémités sont dans le même état d'oxydation, celui qui porte le numéro 1 dans la nomenclature internationale est placé en haut.
4- les 2 autres substituants non carbonés du carbone asymétrique sont en avant du plan de projection.

Projection de Fisher du glycéraldéhyde

(R) → (D)

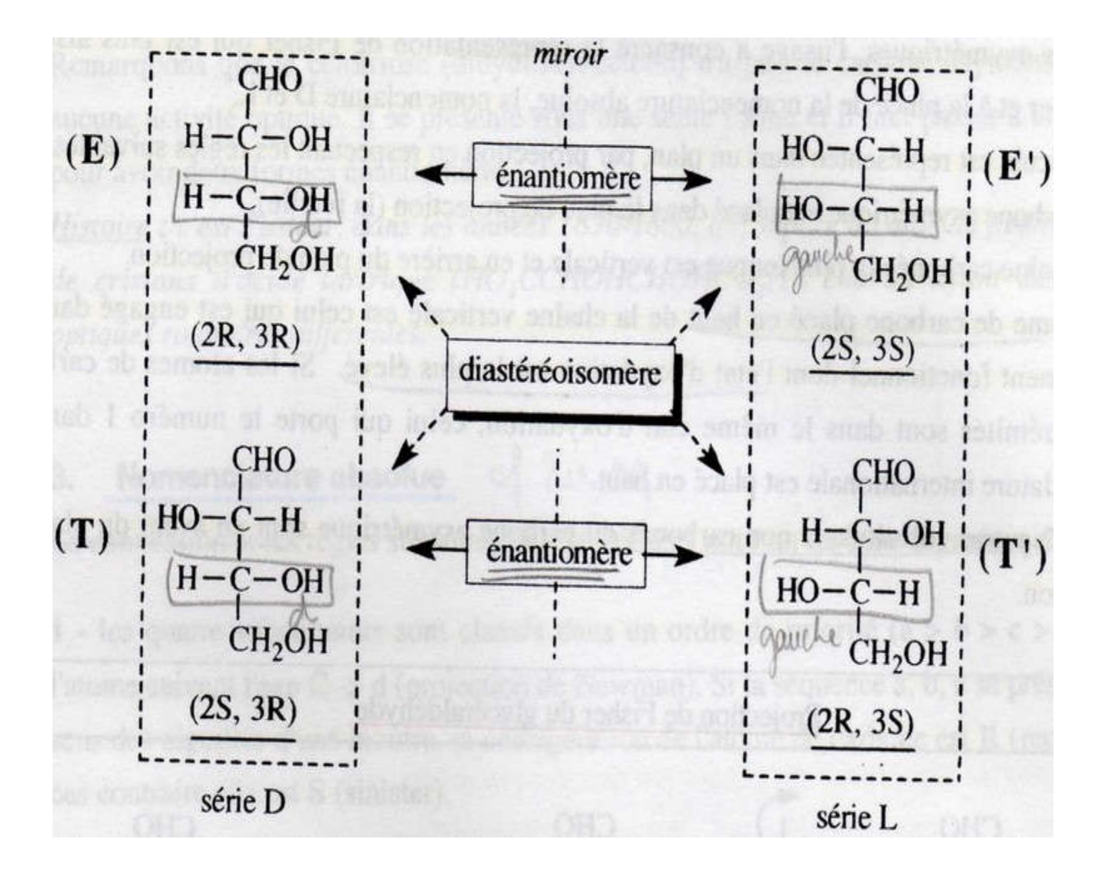
H et OH en avant

(S) → (L)

L'énantiomère (D) correspond à l'énantiomère (R) de la nomenclature absolue, l'énantiomère (L) à (S).
Pour le glycéraldéhyde, le D-glycéraldéhyde est dextrogyre.

Passons maintenant à un ose d'ordre supérieur, par exemple un aldotétrose. La molécule aura deux carbones asymétriques C2 et C3. Les différents stéréoisomères auront l'un le C2 en configuration R, le C, en configuration R, noté en abrégé (2R, 3R), son énantiomère (2S, 3S), puis (2R, 3S) et son énantiomère (2S, 3R).

Les différents stéréoisomères de l'aldotétrose dans la représentation de Fisher sont:



Les stéréoisomères de configuration qui ne sont pas des énantiomères sont désignés sous le

nom de diastéréoisomères. Les stéréoisomères de configuration qui diffèrent par une seule configuration d'un carbone asymétrique sont des'épimères:
- E et E' sont des énantiomères, il en est de même pour T et T'.
- E et E' sont des diastéréoisomères par rapport à T et T'.
- E et T sont des épimères. E et T' sont des épimères. Cette relation n'est pas transitive (T et T' ne sont pas des épimères).

Dans la nomenclature absolue, les différents stéréoisomères sont désignés par:
- E (2R, 3R), E' (2S, 3S), T (2S, 3R) et T' (2R, 3S).

La nomenclature D et L fait référence uniquement à la configuration du carbone (n-1) de l'ose, qui définira donc deux séries. La série D fait référence à la structure du D-C glycéraldéhyde, c'est-à-dire à la configuration du C2 de cette molécule. Pour cet aldotétrose on a : D-E-, D-T et leurs énantiomères respectifs L-E' et L-T'.

Les abréviations D et L ne font en aucun cas référence à la nature du pouvoir rotatoire, dextrogyre (+) ou lévogyre (-).

Nomenclature D et L et filiation des oses

La nomenclature D et L des oses est une nomenclature relative et par filiation. Tous les sucres seront préfixés par les lettres D ou L en référence pour les aldoses à la configuration du glycéraldéhyde et pour les cétoses à la configuration du cétotétrose. Ce préfixe sera suivi de la nature du pouvoir rotatoire de la molécule (-) ou (+).

Aldoses

La nomenclature est définie par rapport à la position de l'hydroxyle porté par le carbone asymétrique voisin de la fonction alcool primaire en référence au glycéraldéhyde.

CHO / H−C−OH / CH_2OH ⇒ CHO / $(CHOH)_n$ / H−C−OH / CH_2OH

D-glycéraldéhyde

série **D**

CHO / HO−C−H / CH_2OH ⇒ CHO / $(CHOH)_n$ / HO−C−H / CH_2OH

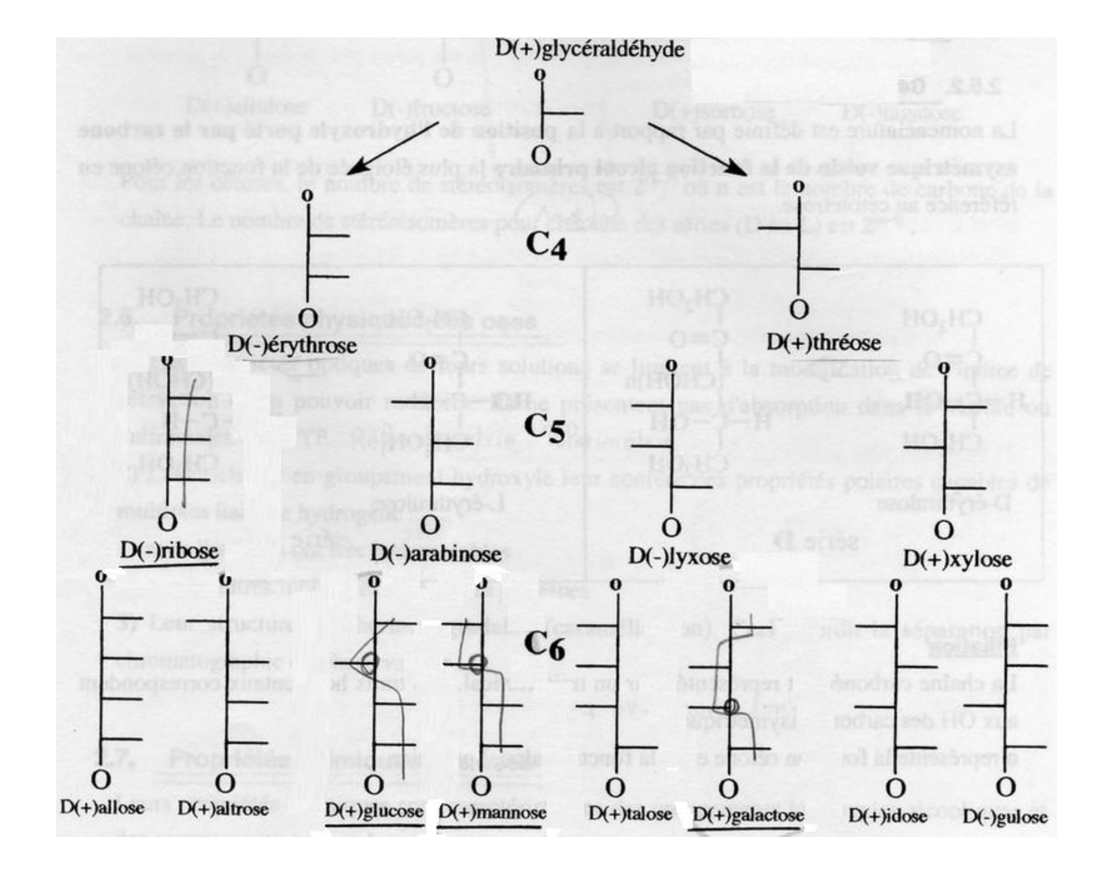
L-glycéraldéhyde

série **L**

Filiation

La chaîne carbonée est représentée par un trait vertical. Les traits horizontaux correspondent aux OH des carbones asymétriques.

o représente la fonction aldéhyde et O la fonction alcool primaire.

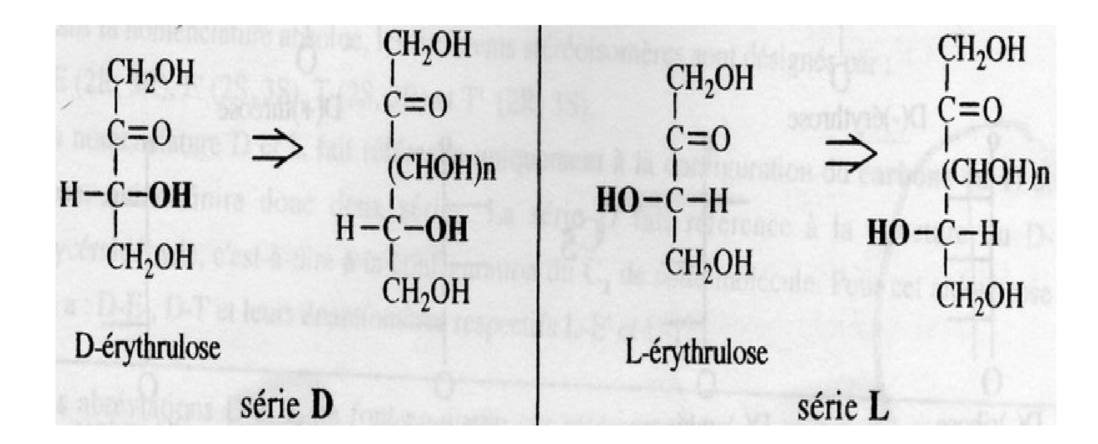


Pour les aldoses, le nombre de stéréoisomères est 2n-2 où n est le nombre de carbone de la chaîne. Le nombre de stéréoisomères pour chacune des séries (D ou L) est 2n-3
Exemple : aldohexoses où n est égal à 6.
Le nombre total de stéréoisomères est égal à 24 = 16
Le nombre total de stéréoisomères pour la série D est 23= 8.

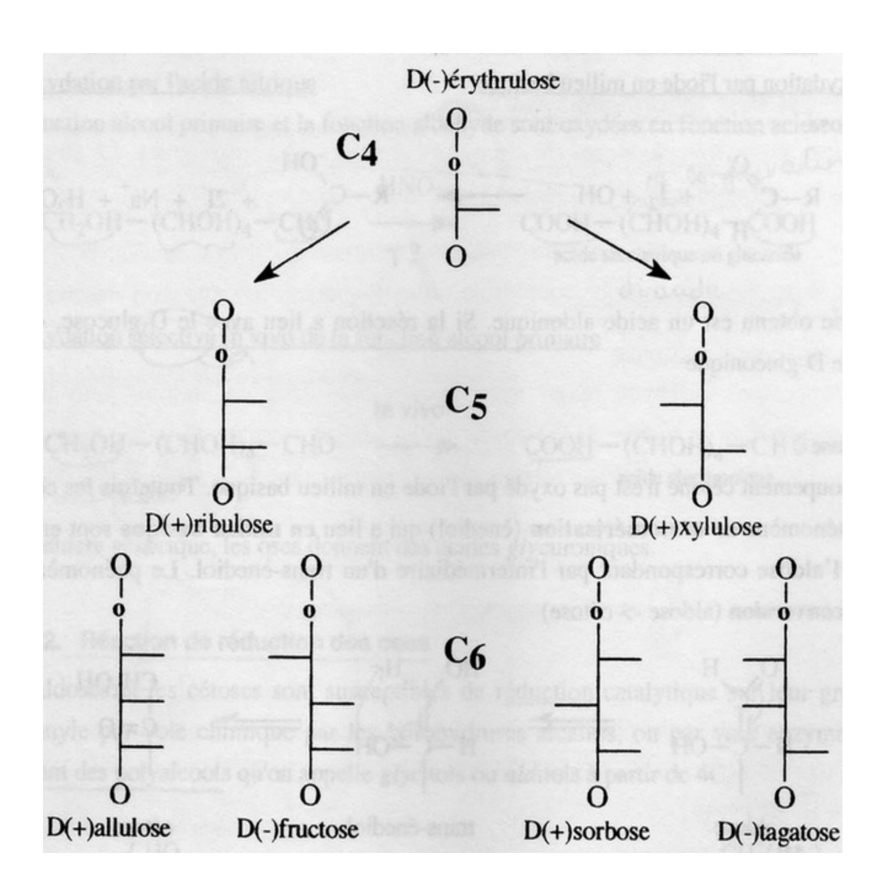
Rappelons que les stéréoisomères qui ne diffèrent entre eux que par la configuration d'un seul carbone asymétrique sont appelés des épimères.
Exemple : D(+)glucose et D(+)mannose => EPIMÈRE EN C2 ou encore D(+)glucose et D(+)galactose => EPIMÈRE EN C4
Les aldoses des séries D et L sont énantiomères 2 à 2.
Exemple : D(-)ribose et L(+)ribose
Lorsque 2 groupes hydroxyles OH adjacents sont disposés du même coté dans la représentation de Fisher, ils sont dits en configuration érythro, dans le cas contraire ils sont dits thréo. Les noms du D(+)thréose et de son isomère D(-)érythrose prennent leur racine dans cette dénomination.

Cétoses

La nomenclature est définie par rapport à la position de l'hydroxyle porté par le carbone asymétrique voisin de la fonction alcool primaire la plus éloignée de la fonction cétone en référence au cétotétrose.



Filiation
La chaîne carbonée est représentée par un trait vertical. Les traits horizontaux correspondent aux OH des carbones asymétriques.
o représente la fonction cétone et O la fonction alcool primaire.



Pour les cétoses, le nombre de stéréoisomères est 2^n-3 où n est le nombre de carbone de la chaîne. Le nombre de stéréoisomères pour chacune des séries (D ou L) est 2^n-4.

Propriétés physiques des oses

1) Les propriétés optiques de leurs solutions se limitent à la modification de l'indice de réfraction et au pouvoir rotatoire. Ils ne présentent pas d'absorption dans le visible ou l'ultraviolet.
2) Leur richesse en groupement hydroxyle leur confère des propriétés polaires capables de multiples liaisons hydrogène:
- avec l'eau : ils ont très hydrosolubles
- avec d'autres molécules comme les protéines

3) Leur structure est thermodégradable (caramélisation). Ceci interdit la séparation par chromatographie en phase vapeur.

Propriétés chimiques des oses

Leurs propriétés chimiques sont caractéristiques des groupements hydroxyles alcooliques et des groupements carbonyles.

Réaction d'oxydation des oses

1) Oxydation par l'iode en milieu basique

Aldose

$$R-CHO + I_2 + OH^- \longrightarrow R-COOH + 2I^- + Na^+ + H_2O$$

L'acide obtenu est un acide aldonique. Si la réaction a lieu avec le D-glucose, on obtient l'acide Dgluconique.

Cétose
Le groupement cétone n'est pas oxydé par l'iode en milieu basique. Toutefois les cétoses, par un phénomène de tautomérisation (ènediol) qui a lieu en milieu basique sont en équilibre avec l'aldose correspondant par l'intermédiaire d'un trans-ènediol. Le phénomène est une interconversion (aldose -> cétose).

aldose $\rightleftharpoons$ trans-énediol $\rightleftharpoons$ cétose

Dans le trans-ènediol, le carbone C2 n'est plus asymétrique, il peut subir un réarrangement pour donner un cis-ènediol (épimère pour la fonction OH), lequel pourra donner un aldose épimère. La conversion Dglucose / D-mannose est une épimérisation.

D-glucose <=> trans-énediol <=> cis-énediol <=> D-mannose

2) Réaction avec la liqueur de Fehling en milieu basique

Aldose

$$R-CHO + 2Cu(OH)_2 \longrightarrow R-COOH + Cu_2O + 2H_2O$$

(Cu_2O : rouge brique)

Cétose

$$CH_2OH-(CHOH)_3-CO-CH_2OH + 4\,Cu(OH)_2 \longrightarrow \begin{cases} CH_2OH-(CHOH)_2-COOH & \text{acide D-érythronique} \\ CH_2OH-COOH & \text{acide glycolique} \end{cases}$$

3) Oxydation par l'acide nitrique

La fonction alcool primaire et la fonction aldéhyde sont oxydées en fonction acide.

$$CH_2OH-(CHOH)_4-CHO \xrightarrow[T°]{HNO_3} COOH-(CHOH)_4-COOH$$

acide saccharique ou glucaride

4) Oxydation sélective in vivo de la fonction alcool primaire

$$CH_2OH-(CHOH)_4-CHO \xrightarrow{\text{in vivo}} COOH-(CHOH)_4-CHO$$

acide glucuronique

De manière générique, les oses donnent des acides glycuroniques.

Réaction de réduction des oses

Les aldoses et les cétoses sont susceptibles de réduction catalytique sur leur groupement carbonyle par voie chimique par les borohydrures alcalins, ou par voie enzymatique, en donnant des polyalcools qu'on appelle glycitols ou alditols à partir de 4C.

CHO, H–C–OH D-glucose $\underset{\text{ou } LiBH_4}{\overset{NaBH_4}{\rightleftharpoons}}$ D-sorbitol CH$_2$OH, H–C–OH
= D- Glucitol

CH$_2$OH, C=O D-fructose $\underset{\text{ou } LiBH_4}{\overset{NaBH_4}{\rightleftharpoons}}$ D-sorbitol CH$_2$OH, H–C–OH

Estérification et éthérification

Les acides estérifient les fonctions alcools: Grande importance dans le métabolisme

$$-OH + H_3PO_4 \longrightarrow -O-\overset{O}{\overset{\|}{P}}(O^-)-O^-$$

ose → ester-phosphate

Les hydroxyles donnent avec des alcools des éthers-oxydes:

$$-OH + HO-R \longrightarrow -O-R + H_2O$$

ose + alcool → éther-oxyde

Propriétés "anormales" des oses

Certaines propriétés physiques ou chimiques des oses sont inattendues. La structure telle qu'elle a été donnée jusqu'ici ne permet pas de comprendre les propriétés suivantes.

Propriétés chimiques

1) Combinaison bisulfitique

Le groupement aldéhyde réagit avec l'hydrogénosulfite de sodium pour donner un hydrogénosulfate de sodium de l'aldéhyde qui en général précipite. Cette réaction a lieu à pH neutre.
Le dérivé bisulfurique obtenu recolore le réactif de shiff en rouge.

$$R-CHO + NaHSO_3 \longrightarrow R-CH(OH)-SO_3^- Na^+$$

Les aldoses ne donnent pas de combinaisons bisulfitiques : leur groupement aldéhyde n'a pas la réactivité chimique classique d'un aldéhyde à pH neutre.

2) Réaction d'acétalisation

En milieu acide, le groupement aldéhyde réagit avec deux molécules d'alcool pour aboutir à la formation d'un acétal.

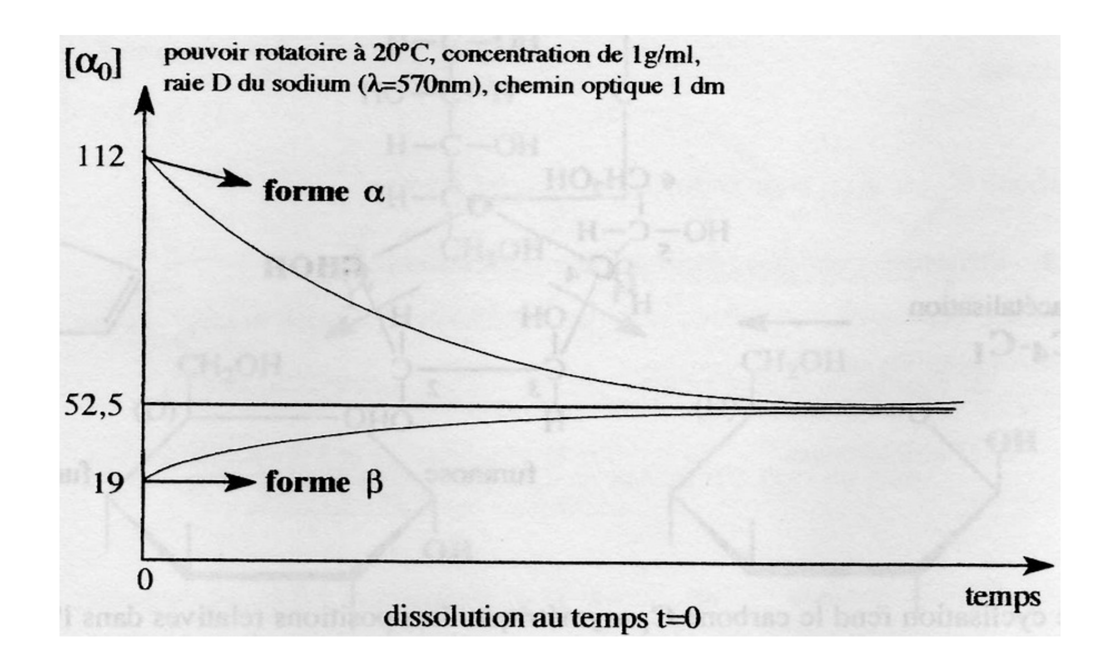
$$R-CHO + CH_3OH \xrightarrow{\text{addition}} R-CH(OH)-OCH_3 \text{ (semi-acétal)}$$

$$R-CH(OH)-OCH_3 + CH_3OH \xrightarrow{\text{substitution}} R-CH(OCH_3)-OCH_3 \text{ (acétal)}$$

Le D-glucose ne réagit qu'avec une seule molécule de méthanol.
Le produit obtenu peut être séparé en 2 constituants de même structure chimique mais différents par leur pouvoir rotatoire, et appelés:
- α méthyl-glucoside : αo = + 154° pouvoir rotatoire à 20°C, concentration de 1 g/ml
- β méthyl-glucoside : αo = - 34°

Propriété physique: phénomène de mutarotation

Expérience
- La cristallisation du D-glucose dans des solvants différents (éthanol, pyrimidine) conduit non pas à un seul produit mais à 2 produits dont les pouvoirs rotatoires sont différents. Ces 2 formes ont été qualifiées de forme α (+112°), cristallisation dans l'éthanol, et de forme β (+19°), cristallisation dans la pyrimidine.
Ces deux formes sont dites anomères.
- On observe pour chacune des formes mises en solution aqueuse, en fonction du temps, une évolution du pouvoir rotatoire qui atteint pour chacune des formes la même valeur.
C'est le phénomène de mutarotation :



Cette expérience suggère que le D-glucose a un centre chiral supplémentaire et que lorsque l'équilibre est atteint, les 2 formes α et β sont présentes en solution dans les rapports respectifs suivants : 1/3 et 2/3.

Structure cyclique des oses

Tollens, en 1884, a proposé une structure cyclique du glucose pour interpréter ces propriétés "anormales" décrites dans le paragraphe précédent.

Réaction d'hémhacétalisation: cyclisation

La réactivité du carbonyle est suffisante pour que, mis à proximité d'un hydroxyle, la réaction aldéhyde/alcool se produise. Pour le glucose, cette hémi-acétalisation intra-moléculaire peut avoir lieu avec les paires de carbone C5-C1 ou C4-C1 pour former un hétérocycle à oxygène à 6 (pyranose) ou 5 sommets (furanose).

D-glucose — hémi-acétalisation C_5-C_1 → pyranose — pyrane

hémi-acétalisation C_4-C_1 → furanose — furane

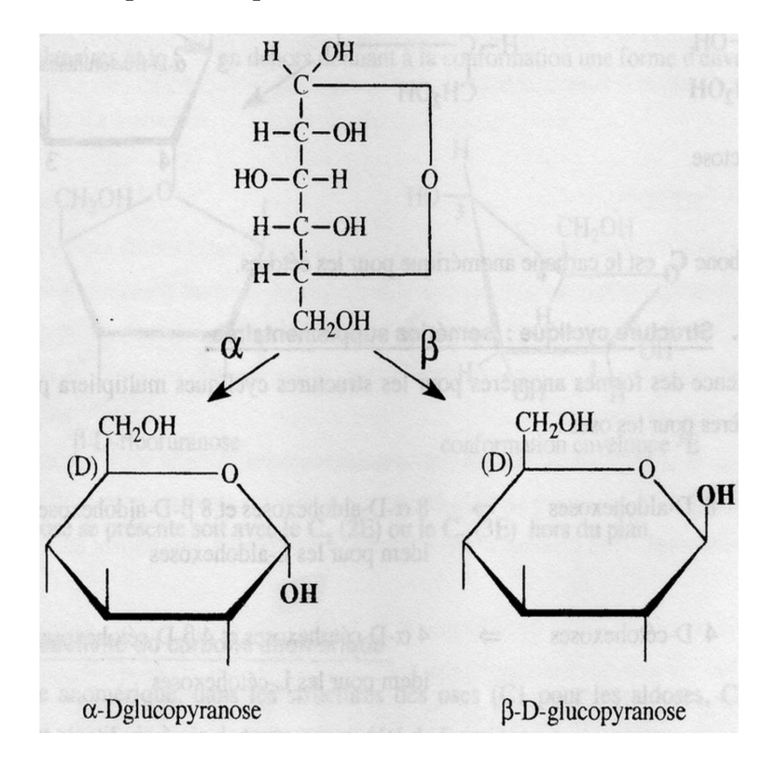
Cette cyclisation rend le carbone C1 asymétrique. Les positions relatives dans l'espace des 4 substituants définissent 2 configurations de stéréoisomères, les anomères a et p. Le carbone C, est désigné sous le nom de carbone anoroérique. Remarquons que les formes anomères a et p ne sont pas des énantiomères mais des épimères.

L'interconversion des formes cycliques a et p passe par la forme linéaire.
- à pH 7 les formes cycliques représentent 99% avec 1/3 de forme α et 2/3 de forme β
- à pH basique, la forme prépondérante est la forme linéaire 99%

forme α <=> forme linéaire <=> forme β

Représentation de Haworth

La représentation en perspective de Haworth facilite la représentation des diverses formes cycliques. Le cycle est perpendiculaire au plan de la feuille, ses liaisons en avant sont épaissies. Le carbone le plus oxydé est positionné à l'extrémité droite. La position des groupements hydroxyle est fonction de leur position dans la représentation de Fisher. Les H et OH se trouvant à droite dans la représentation de Fisher se retrouveront au-dessous du plan do cycle.
Pour le glucose, c'est la configuration du C5 qui détermine la série D ou L dans la représentation de Fisher. Donc, dans la représentation de Haworth, c'est la position par rapport au plan de la feuille de la fonction alcool primaire qui déterminera la série : série D pour CH2OH au-dessus du plan du cycle, pour la série L CH2OH au-dessous du plan. Par analogie, il en sera de même pour les autres oses.
Dans la représentation simplifiée, les carbones et les hydrogènes ne sont pas notés et les OH sont représentés par des traits verticaux.



α-Dglucopyranose β-D-glucopyranose

La cyclisation des aldohexoses peut donner des glucofuranoses. La stabilité de ces derniers est relativement faible et les formes cycliques des aldohexoses sont des glucopyranoses.

Cyclisation d'un aldopentose

Le carbone C2 est le carbone anomérique pour les cétoses.

Structure cyclique: isomères supplémentaires

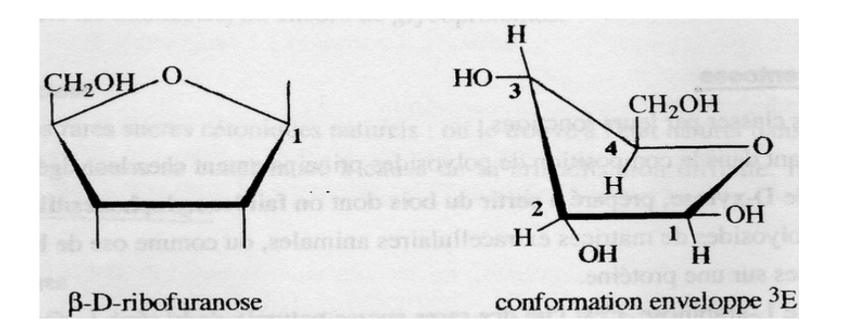
L'existence des formes anomères pour les structures cycliques multipliera par 2 le nombre d'isomères pour les oses:
8 D-aldohexoses => 8 α-D-aldohexoses et 8 β-D-aldohexoses
idem pour les L-aldohexoses
4 D-cétohexoses => 4 α-D-cétohexoses et 4 β-D-cétohexoses
idem pour les L-cétohexoses

Conformation des structures cycliques

La conformation des hétérocycles à 6 ou 5 atomes ne sont pas planaires. Les formes tridimensionnelles d'un cycle hexagonal non planes sont interchangeables sans rupture de liaison covalente par de simples rotations des liaisons.

Un cycle pyranique pourra se présenter sous 2 formes principales : forme chaise et bateau. La conformation la plus stable est la forme chaise et celle-ci sera d'autant plus stable que les substituants encombrants des carbones asymétriques seront en positions équatoriales. Dans le pVglucopyranose, l'OH du carbone anomérique (C1) est en position équatoriale tandis que dans l'aglucopyranose il est en position axiale : le fi-glucopyranose sera une molécule plus stable que l'aglucopyranose (rapport 2 des formes en solution à pH 7).

Les cycles furaniques ne sont pas planaires: la forme la plus probable est une forme à 4 atomes coplanaires et le 5ieme en dehors donnant à la conformation une forme d'enveloppe (E).



Le β-D-ribose se présente soit avec le C2 (2E) ou le C3 (3E) hors du plan.

Réactivité du carbone anomérique

Le carbone anomérique, dans les structures des oses (C1) pour les aldoses, C2 pour les cétoses), est réactif vis-à-vis de toute une variété de fonctions.

Condensation
- La condensation peut avoir lieu avec des hydroxyles d'alcools ou de phénols : la liaison formée est une liaison O-osidique.
- La réactivité peut avoir lieu avec des aminés (liaison N-glycosidique), ou encore avec des dérivés soufrés (liaison S-osidique)
- La réactivité peut avoir lieu avec l'acide phosphorique

Oses d'intérêt biologique

Hormis de rares exceptions, les oses naturels et leurs dérivés sont de la série D.

Trioses

Les formes D et L du glycéraldéhyde sont présentes dans la nature. Les formes les plus importantes des trioses sont des dérivés phosphorylés que l'on trouve dans les premières étapes de la glycolyse (catabolisme oxydatif) : glycéraldéhyde 3-phosphate et dihydroxy acétone phosphate obtenus à partir de la dégradation du fructose 1-6 bisphosphate. Cette réaction est catalysée par l'enzyme aldolase.

Tétroses

Le seul tétrose d'intérêt est l'aldose D(-)érythrose. Son ester-4-phosphate est:
- l'un des nombreux intermédiaires de la photosynthèse et d'une voie de dégradation du glucose branchée sur son produit aldonique d'oxydation : l'acide phospho-gluconique
- le précurseur de la biosynthèse par les microorganismes d'acides aminés aromatiques.

Pentoses

On peut les classer par leurs fonctions:
- ceux entrant dans la composition de polyosides principalement chez les végétaux:
- le D-xylose, préparé à partir du bois dont on fait les xylophones. Il intervient aussi dans les polyosides de matrices extracellulaires animales, ou comme ose de branchement des

glycanniques sur une protéine.
- le L-arabinose, c'est l'un des rares sucres naturels de la série L. On le trouve dans toutes les plantes, on trouve aussi le D-arabinose. Il est le précurseur immédiat du D-glucose et du D-mannose. Non métabolisé par l'homme, il est éliminé directement dans les urines.
- le D-ribose et son dérivé de réduction le D-2-désoxyribose (disparition de la fonction alcool en C2) entrent dans la composition des acides ribonucléiques et désoxyribonucléiques (ARN et ADN).
- le D-ribulose : ce cétopentose est trouvé à l'état de ribulose-1,5-diphosphate qui est un élément fondamental dans le "cycle des pentoses" et des réactions de photosynthèse.

Hexoses

Les hexoses importants, isomères de la série D, sont Je glucose, deux de ses épimères le galactose et le mannose ainsi qu'un cétose, le fructose et des dérivés aminés.

- le D(+)glucose
C'est la "molécule carburant" du monde vivant et par là le prototype des études de structure et propriétés des oses. Il est abondant à l'état libre dans le miel, les fruits. Il est hydrosoluble dans les liquides biologiques. Sous forme polymérisée à partir de l'α-D-glucopyranose, il constitue les réserves énergétiques (amidon végétal, glycogène animal) de la plupart des organismes supérieurs.
Le polymère formé à partir de l'anomère β donne un polyoside aux propriétés physiques et biologiques radicalement différentes des polymères α: la cellulose.

- le D(+)galactose
Le plus répandu après le glucose, il entre dans la constitution du lactose du lait des mammifères. On le trouve combiné dans certains oligosides, hétérosides et glycoprotéines.

- le D(+)mannose
Peu abondant à l'état libre si ce n'est dans l'écorce d'orange, il entre dans la constitution de polymères tels les mannanes, ou encore de glycoprotéines.

- le D(-)fructose
C'est l'un des rares sucres cétoniques naturels : on le trouve à l'état naturel dans les fruits et le miel auquel il donne sa consistance à cause de sa cristallisation difficile. Il entre dansJa composition du saccharose.

- les osamines
Ce sont des oses dans lesquels une fonction alcool a été substituée par une aminé. Les plus importantes sont des hexosamines, dérivés du glucose ou du galactose par substitution sur le C2:

D-glucosamine (Glc-NH_2)

N-acétyl-D-glucosamine (Glc-Nac)

Les osamines ont les mêmes propriétés que les oses (propriétés réductrices, formes cycliques,...) et les propriétés des aminés (basique : fixation d'un proton). On les trouve essentiellement dans:
- sous forme polymérisée, par exemple dans la chitine (squelette des arthropodes)
- dans la confection de la muréine (paroi des bactéries)
- dans les glycoprotéines.

Les Glucides - partie 2

3. Les osides

Les osides sont des polymères d'oses parmi lesquels on distingue les hétérosides dont l'hydrolyse libère des oses et des composés non glucidiques (aglycone), les holosides dont l'hydrolyse ne libère que des oses et parmi ceux-ci les oligosides et les polyosides dont la différence se situe au niveau du nombre de monomères formant le polymère.

Les oligosides

Les oligosides ou oligoholosides sont des holosides qui résultent de la condensation de 2 à 10 molécules d'oses ou de dérivés d'ose par formation entre chacune d'elles d'une liaison éther.

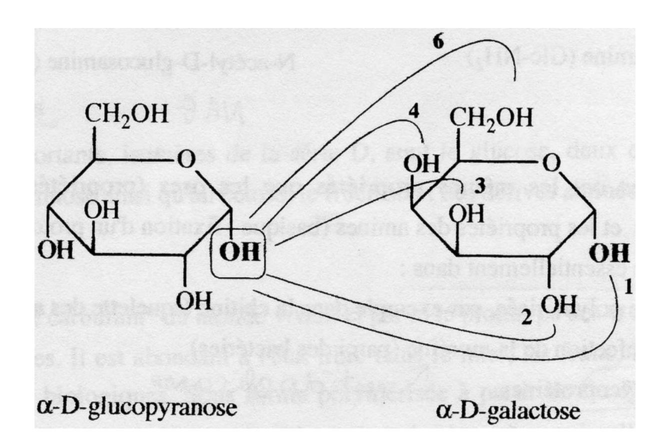
La liaison osidique ou glycosidique

La liaison osidique se fait entre l'hydroxyle réducteur d'un ose porté par le carbone anomérique (C1 pour les aldoses et C2 pour les cétoses), OH semi-acétalique en position α ou β, avec un hydroxyle d'un autre ose.

R-OH + R'-OH --> R-O-R' + H2O

Trois types de liaisons peuvent se former:
- OH semi-acétalique + OH alcool primaire (diholoside réducteur, 1 OH semi-acétalique libre)
- OH semi-acétalique + OH alcool secondaire (diholoside réducteur: idem)
- OH semi-acétalique + OH semi-acétalique (diholoside non réducteur, pas de OH semi-acétalique libre)

Exemple: D-glucose et D-galactose



α-D-glucopyranose α-D-galactose

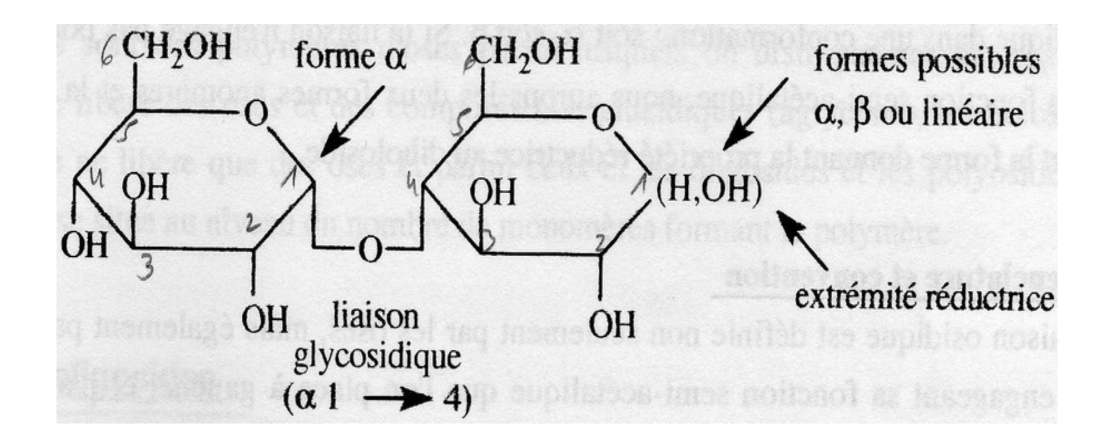
La liaison glycosidique va bloquer la forme anomère de l'ose engageant sa fonction semi-acétalique dans une conformation : soit α, soit β. Si la liaison n'engage pas pour le deuxième ose sa fonction semiacétalique, nous aurons les deux formes anomères et la forme linéaire qui est la forme donnant la propriété réductrice au diholoside.

Nomenclature et convention
La liaison osidique est définie non seulement par les oses, mais également par l'anomère de l'ose engageant sa fonction semi-acétalique que l'on place à gauche, et par le numéro de l'atome de l'autre ose. Génériquement le nom sera:
x...osyl ((anomère) 1 n) y...ose (n est différent du carbone anomérique)

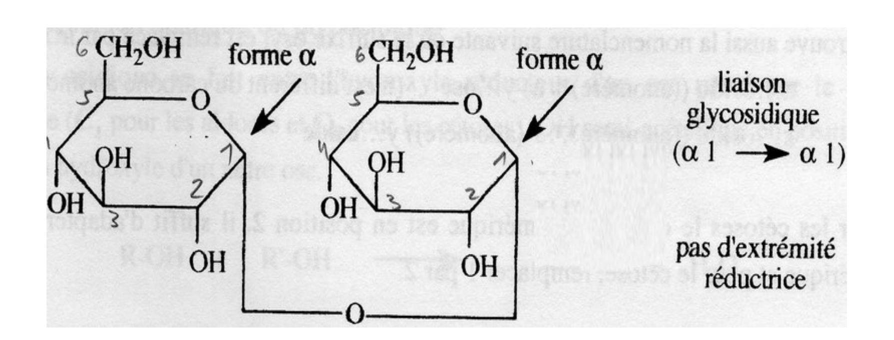
x...osyl ((anomère) 1 1 (anomère)) y...oside
On trouve aussi la nomenclature suivante où le suffixe osyl est remplacé par le suffixe osido:
x...osido ((anomère) 1 n) y ...ose (n est différent du carbone anomérique)
x...osido ((anomère) 1 1 (anomère)) y...oside
Pour les cétoses le carbone anomérique est en position 2, il suffit d'adapter cette formule générique et pour le cétose, remplacer 1 par 2.
Pour simplifier les écritures de polysaccharides, des écritures condensées conventionnelles ont été définies:

Glc	Glucose	Gai	Galactose
Man	Mannose	Fru	Fructose
Fuc	Fucose	Rha	Rhamnose
GlcN	Glucosamine	GlcNac	N-acétylglucosamine
GalN	galactosamine	GalNac	N-acétylgalactosamine
NeuAc	acide-N-acétylneuraminique	GlcUA	acide glucuronique

Exemples:
- Voir exemple de la liaison osidique
D-glucopyranosido (α1 --> 4) D-galactopyranose,
en biologie les oses appartiennent à une seule série, la plus fréquente D, on omet cette dernière et on note en écriture condensée : Glc (α1 --> 4) Gal
-D-glucopyranosido (α1 --> 4) D-glucopyranose, en abrégé : Glc (α1 --> 4) Glc



- D-glucopyranosido (α1 --> α1) D-glucopyranoside, en abrgé Glc (α1 --> α1) Glc



Stabilité de la liaison glycosidique
Les liaisons éther sont rompues par hydrolyse et on retrouve les molécules de départ avec leurs deux fonctions hydroxyle.
La liaison est relativement stable à pH 7, toutefois moins que la liaison peptidique (amide) ou carboxylester (glycérides) ou phosphoester (glycérophospholipides).

- Hydrolyse chimique
Catalysée par l'ion H+, elle est réalisée à pH acide (HCl N/10) et à chaud (60°C) en 1 heure. Cette hydrolyse n'a aucune spécificité et toutes les liaisons glycosidiques sont rompues et les produits obtenus sont les unités d'oses.

- Hydrolyse enzymatique
L'hydrolyse des liaisons glycosidiques se fait par des catalyseurs enzymatiques d'hydrolyse (hydrolases), spécifiques des liaisons glycosidiques (glycosidases). La spécificité est telle qu'une giycosidase peut agir uniquement sur un seul substrat (spécificité principale) et sur un seul anomère et même un seul type de liaison (spécificité secondaire). Par exemple, nous aurons des glycosidases, des α ou β-glycosidases, des α ou β-glucosidases, etc..

Les diholosides

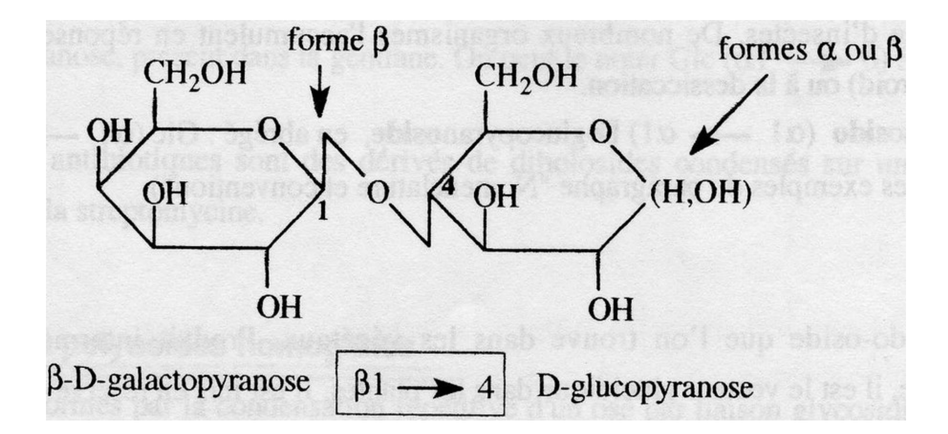
Trois diholosides existent à l'état libre, les autres proviennent de l'hydrolyse de polyosides. Résultant de la condensation avec élimination d'eau de 2 hexoses, leur formule brute est $C_{12}H_{22}O_{11}$ il s'agit du lactose (lait animal), du saccharose (végétal) et du thréalose (hémolymphe des insectes, champignons). L'usage a consacré une classification par rapport au caractère réducteur des diholosides (réaction avec la liqueur de Fehling), conséquence de la nature de la liaison glycosidique.

- Disaccharides rédacteurs
C'est un osido-ose qui possède une fonction OH semi-acétalique libre : le diholoside est réducteur et se présente sous deux formes anomères et une structure linéaire en équilibre pour l'ose réducteur.

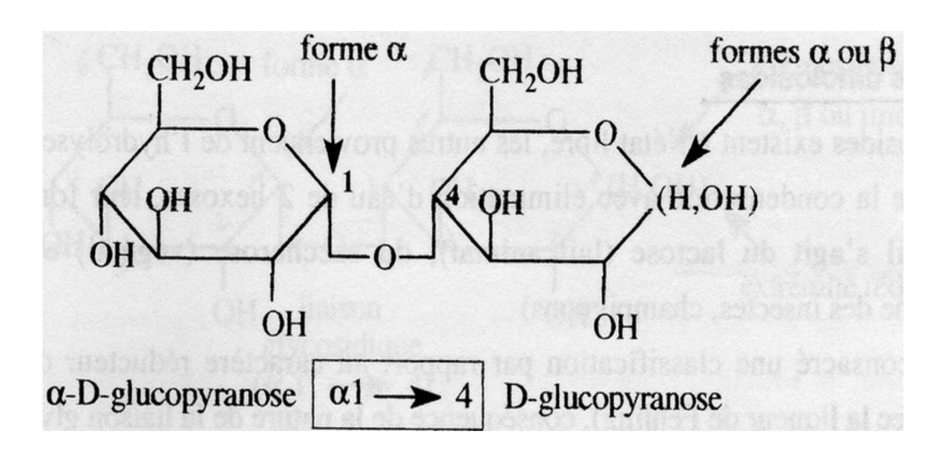
Lactose
C'est le sucre du lait des mammifères à une concentration d'environ 50g/L. Une lactase intestinale, ancrée dans la membrane des entérocytes, l'hydrolyse en glucose et galactose qui peuvent être absorbés.
Le lactose est le substrat de fermentation en acide lactique par des lactobacilles à la base des fermentations fromagères.

Histoire: la découverte de Vopéron lactose et la nature de l'induction de la biosynthèse de la β-Dgalactosidase chez Escherichia Coli par Vallolactose sont dues aux français Monod,Lwolffet Jacob (Prix Nobel de Médecine 1965).

β-D-galactopyranosido (β1 --> 4) D-glucopyranose, en abrégé : Gal (β1 --> 4) Glc



Maltose
C'est un produit de dégradation de l'amidon et du glycogène. Par hydrolyse, il donne 2 molécules de glucose.
D-glucopyranosido (α1--> 4) D-glucopyranose, en abrégé : Glc (α1--> 4) Glc



Isomaltose
C'est un produit de dégradation de l'amidon et du glycogène.
D-glucopyranosido (α1 --> 6) D-glucopyranose, en abrégé : Glc (α1 --> 6) Glc

Cellobiose
C'est un produit de dégradation de la cellulose. Par hydrolyse, il donne 2 molécules de glucose.
D-glucopyranosido (β --> 4) D-glucopyranose, en abrégé: Glc (β --> 4)) Glc

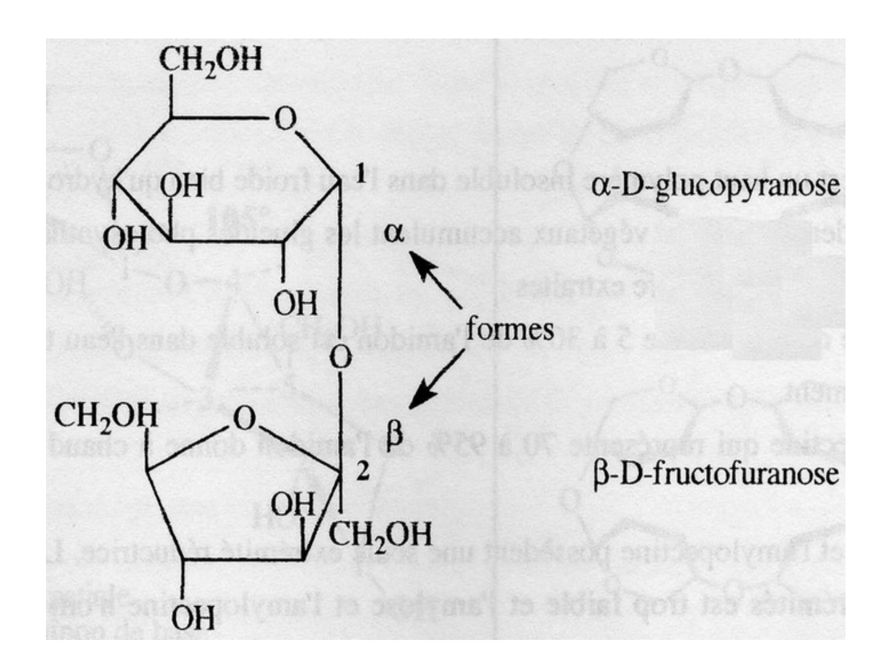
- Disaccharides non rédacteurs
C'est un osido-oside où le type de liaison (carbone anomérique --> carbone anomérique) bloque les 2 oses dans l'une des formes anomères cycliques. Il ne présente pas de phénomène de mutarotation.
Aucun OH semi-acétalique n'est libre et le diholoside n'a aucun pouvoir réducteur.

Tréhalose
C'est un osido-oside que l'on trouve dans les champignons, les bactéries ou encore dans l'hémolymphe d'insectes. De nombreux organismes l'accumulent en réponse à des chocs thermiques (froid) ou à la dessiccation.
D-glucopyranosido (α1 --> α1) D-glucopyranoside, en abrégé : Glc (α1 --> α1) Glc
(voir dessin des exemples du paragraphe "Nomenclature et convention")

Saccharose
C'est un osido-oside que l'on trouve dans les végétaux. Produit intermédiaire de la photosynthèse, il est le vecteur glucidique dans les plantes. Il est mis en réserve dans les tiges de la canne à sucre et dans les racines des betteraves.

Histoire: jusqu'aux campagnes d'Alexandre le Grand d'où il ramena la canne à sucre, l'unique source de "sucre" était le miel et son hydromel.

D-glucopyranosîdo (α1 --> β2) D-fructofuranoside, en abrégé : Glc (α1 --> β2) Fru



Par traitement acide ou enzymatique (soit une α-glucosidase, soit une β-fructosidase), le saccharose, dextrogyre et de pouvoir rotatoire spécifique est de 65°, libère un mélange de D(+)glucose (52,5°) et de D(-)fructose (-93°) qui est lévogyre. Ce mélange produit est le "sucre inverti ou interverti" et on parie de phénomène d'inversion du saccharose.

Les autres oligosides

Deux triholosides sont trouvés à l'état naturel:
- le raffinose, présent dans la betterave est éliminé lors du raffinage du sucre. On peut le noter Gai (α1 --> 6) Saccharose ou encore:
D-galactopyranosido (α1 --> 6) D-glucopyranosido (α1 --> β2) D-fructofuranoside
- le gentianose, présent dans la gentiane. On peut le noter Glc (α1 --> 6) Saccharose
Certains antibiotiques sont des dérivés de diholosides condensés sur une 3ème cycle, par exemple la streptomycine.

Les polyosides homogènes

Ils sont formés par la condensation répétitive d'un ose par liaison glycosidique dépassant 10 unités pour atteindre plusieurs centaines ou milliers. On peut les subdiviser en deux catégories par rapport à leurs fonctions:

Les polyosides de réserve

II s'agit essentiellement des glucosanes (amidon et glycogène) et d'un fructosane (inuline).

L'amidon

L'amidon est un haut polymère insoluble dans l'eau froide bien qu'hydrophile. C'est sous cette forme condensée que les végétaux accumulent les glucides photosynthétisés. Deux fractions homogènes peuvent en être extraites:

- l'amylose qui représente 5 à 30% de l'amidon est soluble dans l'eau tiède et cristallise par refroidissement.
- l'amylopectine qui représente 70 à 95% de l'amidon donne à chaud un empois visqueux (gel).

L'amylose et l'amylopectine possèdent une seule extrémité réductrice. La densité moléculaire de ces extrémités est trop faible et l'amylose et l'amylopectine n'ont pas la propriété des sucres réducteurs. L'hydrolyse de l'amidon coupe le polymère en chaînes assez courtes : les dextrines qui sont réductrices...

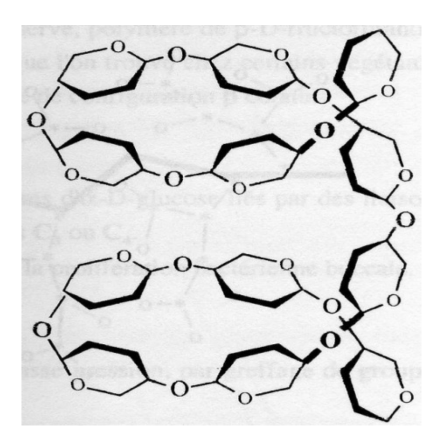
- l'action d'un acide minéral à chaud libère du D-glucose
- l'action d'un enzyme (maltase) aboutit à la libération de maltose. Pour cette raison, les biochimistes ont souvent considéré que l'amidon était un polymère de maltose.

L'amylose

L'amylose est un enchaînement linéaire parfaitement répétitif de 1000 à 4000 monomères de D-glucose sans branchement, liés par une liaison glycosidique (α1 --> 4).

L'analyse des cristaux aux rayons X révèle une structure en hélice gauche par rotation autour de la liaison glycosidique (α1 --> 4) et maintenue par une liaison hydrogène entre les hydroxyles en C2 du premier cycle et C3 du deuxième cycle, hélice à 6 glucoses par tour.

Conformation spatiale du maltose, chaînon de base de l'amidon



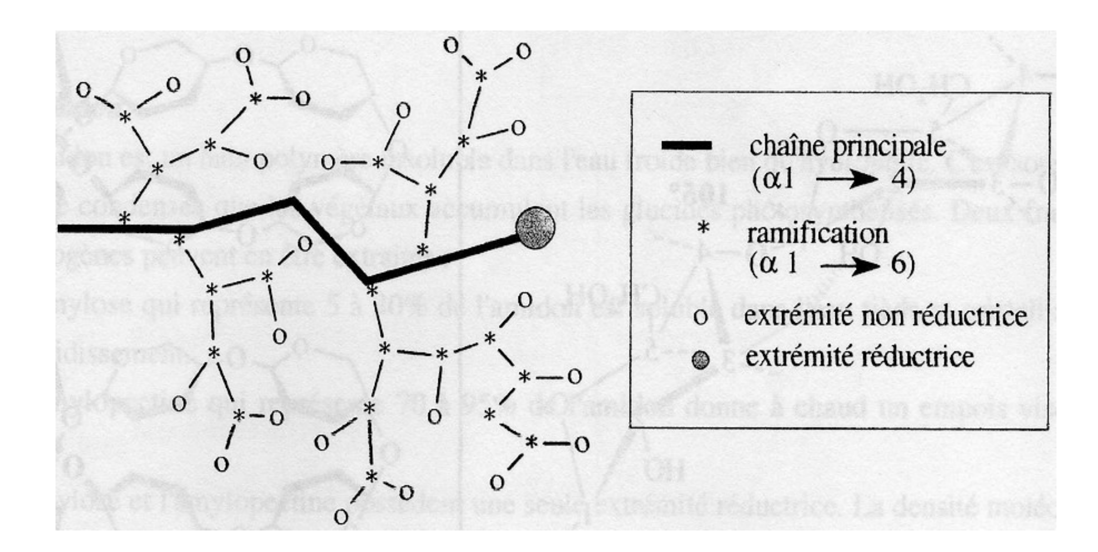
Hélice gauche à 6 unités

L'amylopectine

L'amylopectine se distingue par un nombre de glucose supérieur mais surtout par une structure ramifiée. Sur la chaîne principale (α1 --> 4) des points de branchement, se répétant environ tous les 20 à 30 résidus, sont formés par une liaison (α1 --> 6) où le carbone anomérique appartient à la ramification.

ramification
chaîne latérale
isomaltose
α1 → 6
CH_2OH
CH_2
chaîne principale α1 → 4

Au contraire de la molécule étirée en hélice de la molécule d'amidon, l'amylopectine prend une structure arborescente compactée:



Les utilisations industrielles et technologiques de l'amidon:
L'amidon est utilisé dans l'industrie:
- rôle dans l'alimentation comme "sucre lent", dans la fabrication de la bière
- fabrication d'empois et de colles

Les cyclodextrines (cycloamytose de 6 à 8 unités) sont des oligosides résultant de l'action de l'amylase de Bacillus macerans sur l'amidon. Leur structure en forme de couronne avec une surface apolaire forme une cavité apolaire qui peut servir comme:
- porteur de molécules insolubles dans l'eau. La β-cyclodextrine à 7 unités a une taille bien adaptée aux molécules d'hormones et de vitamines
- modélisation de sites catalytiques artificiels par greffage de groupes réactionnels.

Le glycogène

Le glycogène est un polyglucose que les animaux mettent en réserve dans le cytosol des hépatocytes (glycémie ; distribution à l'organisme) et dans les muscles (contraction musculaire).
Sa structure est celle de l'amylopectine avec les différences suivantes:
- les branchements ont lieu tous les 8 à 12 résidus et même de 3 à 5 au centre de la molécule
- la longueur moyenne des chaînes ramifiées est plus courte

Cette structure est donc plus compacte et plus "buissonante" que celle de l'amylopectine.

Histoire: Claude Bernard, précurseur de la médecine et de la biologie "modernes " mit en évidence en 1856 un corps extrait du foie...

L'inuline

De la famille des fructosanes, c'est un composé de réserve, polymère de β-D-fructofuranose de 30 à 100 unités liés par des liaisons (β --> 1) que l'on trouve chez certains végétaux : dahlias, artichauts, topinambours. C'est le seul composé de configuration β connu.

Les dextranes

Réserves des bactéries et levures, ce sont des polymères d'α-D-glucose liés par des liaisons (α1 --> 6), avec d'occasionnels branchements sur les C3 ou C4.
Ils sont un composant de la plaque dentaire, produit de la prolifération bactérienne buccale. Ils sont utilisés:
- comme substituts du plasma en thérapeutique
- comme phase pour la chromatographie liquide en basse pression, par greffage de groupes fonctionnels ionisés pour les échangeurs d'ions.

Les polyosides de structure

En général extracellulaires, ils construisent les armatures des exosquelettes d'algues, de végétaux (cellulose), et d'animaux (carapace de chitine des arthropodes). Ce sont des polymères de glucose ou d'un dérivé qui ne sont pas ramifiés et dont la liaison entre unité est une liaison avec l'anomère β.

La cellulose

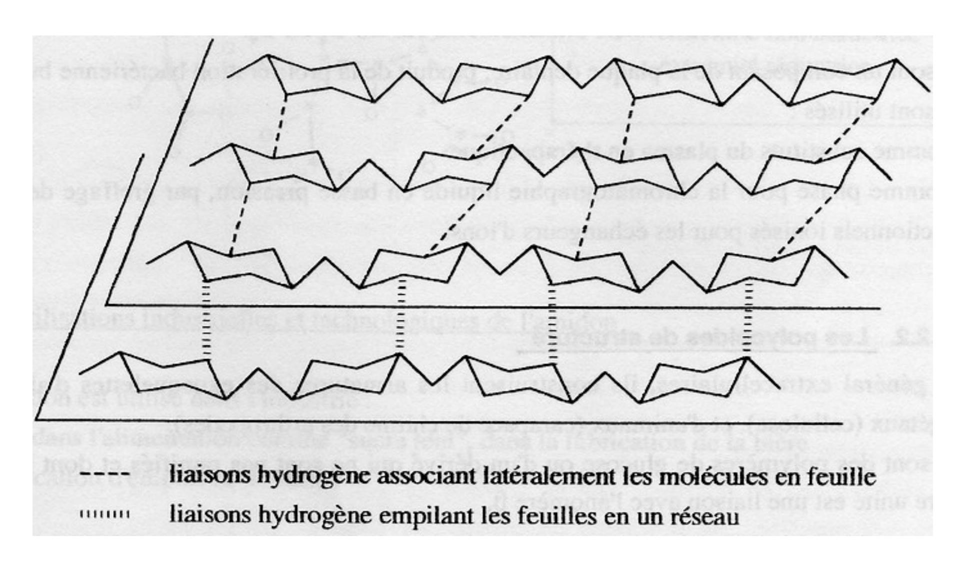
Présente chez certaines bactéries, elle est le constituant majeur des fibres de parois végétales. La cellulose représente la moitié du carbone disponible sur terre, mais il ne constitue pas une source de glucose sauf pour les ruminants.
C'est un polymère linéaire dont la liaison glycosidique est du type : (β —> 4). Cette liaison est bloquée dans une configuration "tête-bêche" stabilisée par les liaisons hydrogène entre

l'oxygène hétérocyclique d'un monomère et la fonction OH porté par le C3 du monomère suivant.

Conformation "tête-bêche" stabilisée par une liaison hydrogène

Ces polymères s'organisent en feuilles toujours par l'intermédiaire de liaisons hydrogène entre les différentes chaînes qui se "collent" latéralement.

Ces feuilles s'empilent parallèlement avec un décalage constant en microfibrilles (de quelques centaines à 2000 unités et d'épaisseur comprise entre 10 et 25 nm), conformation toujours stabilisée par des liaisons hydrogène entre les unités des différentes feuilles. Ces microfibrilles s'associent en fibres ou en couches croisées. L'édifice ainsi formé est d'une remarquable solidité mécanique et résistance à toute dégradation.



Structure d'une microfibrille

La cellulose est employée dans de nombreux produits:
- le coton contient environ 95% de cellulose
- la cellulose est utilisée pour la fabrication du papier, des papyrus
- elle est un support pour des chromatographies d'adsorption et, par greffage de groupes fonctionnels ionisés pour les échangeurs d'ions.

La chitine
Elle diffère de la cellulose que par le C2 du glucose : son hydroxyle est remplacé par le groupement acétylamine (voir les osamines du paragraphe 2.10.4 des hexoses). Ce polymère GlcNac(β1 --> 4) a la même structure que la cellulose. On le trouve dans le squelette extérieur des invertébrés (crustacés, mollusques, insectes).

Hydrolyse enzymatique des hotosides

Les enzymes qui réalisent l'hydrolyse des osides peuvent être spécifiques de:
- la nature du substrat (spécificité principale)
- liaison glycosidique : position des carbones des fonction OH impliquées (spécificité secondaire)
- de l'anomère : configuration de la forme de l'ose (spécificité secondaire)

Citons quelques exemples:

Les disaccharidases
Ces enzymes hydrolysent uniquement les diholosides et n'ont aucune action sur des polyosides d'ordre supérieur. Citons quelques dissaccharidases:
Thréalase: enzyme intestinale qui est une α-glycosidase spécifique des liaisons (α1 —> α1)
Saccharase ou sucrase: enzyme intestinale, α-glucosidase, qui hydrolyse la liaison (α1 —>β2) du saccharose mais aussi la liaison (α1 —> 4) du maltose.
Invertase: c'est une β-fructosidase spécifique de la liaison (α1 —> β2). Elle n'hydrolyse pas le maltose.
Maltase: enzyme intestinale qui est une α-glucosidase spécifique de la liaison (α1 —> 4) du maltose et de la liaison (α1 —> β2) du saccharose.
Isomaltase: enzyme intestinale qui est une α-glycosidase spécifique de la liaison (α1 --> 6) de l'isomaltose.
Lactase: enzyme intestinale qui est une β-galactosidase spécifique de la liaison (β1 —> 4) du lactose.
Elle n'hydrolyse pas le cellobiose.
Cellobiase: une β-glucosidase spécifique de la liaison (β1 —> 4) du celiobiose. Elle n'hydrolyse pas le lactose.

Dégradation enzymatique de l'amidon
Les α-amylases salivaire et pancréatique sont des (α1 --> 4) glucosidases qui agissent sur des polymères de glucose d'au moins trois résidus. Elles agissent sur des liaisons à l'intérieur du polymère et on les qualifie d'endo-glucosidase.
- L'amylose est dégradé en dextrines intermédiaires pour finalement donner du maltose.
- L'amylopectine est dégradée en dextrines. Les points de ramification (α1 --> 6) ne sont pas clivés par les a-amylases et il faut l'intervention d'un enzyme "débranchant" amylo α 1-6 glucosidase ou encore α 1-6 glucoamylase. Finalement l'hydrolyse aboutit à un mélange maltose et isomaltose.
Enfin le maltose et l'isomaltose sont hydrolyses en unités de glucose par une maltase et une isomaltase.
Chez les végétaux, les amylases ne s'attaquent qu'aux chaînes externes et libèrent directement des unités de maltose ou d'isomaltose.

Dégradation du glycogène
Le glycogène alimentaire est dégradé comme l'amylopectine. Dans le foie et le muscle, le mécanisme est différent : une glycogène-phosphorylase activée par les hormones, glucagon dans le foie, adrénaline dans le muscle, fait subir une dégradation séquentielle du glycogène en libérant un résidu d'une extrémité non réductrice, résidu phosphorylé. Cette dégradation séquentielle, pour être complète, a besoin d'un enzyme "débranchant" pour hydrolyser la liaison (α1 —> 6): l'amylo α 1 -6 glucosidase,

glycogène + PO4H2 --> α-glucose 1-P + glycogène(n-1)

Dégradation de la cellulose

Celle-ci est réalisée par des β-glucosidases, les cellulases. Cette hydrolyse conduit au cellobiose qui sera hydrolyse en glucose par les cellobiases. L'escargot possède des cellulases en abondance, les mammifères en sont dépourvus et ne peuvent assimiler l'herbe sauf les herbivores qui abritent dans leur tube digestif des bactéries saprophytes qui produisent les β-glucosidases nécessaires.

Les polyosides hétérogènes

Ils sont des chaînes d'oses ou de dérivés d'oses différents, la plupart du temps limités à deux types.
- les gommes, partie hydrophile des sécrétions des "gommiers" comme les acacias sont des galactorabanes très ramifiés.
- l'agar-agar ou gélose, extrait des algues rouges et très employé en microbiologie pour les cultures sur gel, est un polyoside complexe de D et L-galactose irrégulièrement sulfaté. De ces algues, on extrait aussi des carraghénates, épaississants et gélifiants employés dans l'industrie alimentaire : ce sont des polymères linéaires d'unités diosidiques de galactose sulfaté (carrabiose) liés par une liaison (β1 —> 4), les deux galactoses substitués étant liés par une liaison (β1 —> 4).
- les algues brunes fournissent les alginates, polyuronides linéaires faits de deux acides uroniques, les acides β-D-mannuronique et α-L-guluronique liés par une liaison (β1 —> 4).

Les hétérosides

On regroupe sous ce nom des molécules résultant de l'association covalente de glucides avec d'autres types de molécules et on les désigne très souvent sous le terme de glycoconjugués:
- des lipides de membranes des cellules animales ou bactériennes portent des chaînes oligo ou polyosidiques: ce sont des glycolipides.
- dans les associations avec les protéines, on distingue:
- les protéoglycannes (PG): des polyosides souvent très longs (les glycosaminoglycannes ou GAG) sont associés à une protéine en restant très majoritaires (> 90%)
- les glycoprotéines (GP): ce sont des protéines sur lesquelles sont greffées des chaînes glucidiques courtes dont la fraction varie en général de 1 à 20%
- les peptidoglycannes: réseau de polysides reliés par de nombreux petits peptides
- les protéines glyquées: produits de la fixation chimique d'une unité de glucose. L'hyperglycémie du diabète insulinique favorise la fixation de cet ose sur les protéines plasmatiques (marqueur du diabète).

Les glycoprotéines

Les osides sont fixés sur les protéines par deux types de liaisons formées par condensation:
- la liaison N-osidique qui s'établit en général entre le dérivé N-acétylamine du glucose et la fonction amide de l'asparagine
- la liaison O-osidique est plus diverse. Elle s'établit par le dérivé N-acétylamine du galactose chez les mammifères (mannose pour les levures...) et la fonction alcool de la sérine ou de lathréonine.

Liaison N-osidique (Asn = asparagine)

Liaison O-osidique (Ser = sérine Thr = thréonine)

La diversité des osides réside non pas dans celle de leurs oses constitutifs mais dans l'arrangement de ces derniers. On peut trouver:
- des oses neutres: D-galactose, D-mannose
- des déoxyoses: L-fucose et L-rhamnose
- des osamines sous forme acétylée: D-glucosamine, D-galactosamine
- des dérivés de la famille des acides sialiques formés à partir d'un cétose complexe à 9 carbones. Le plus courant est le NeuNAc (NANA pour les américains).

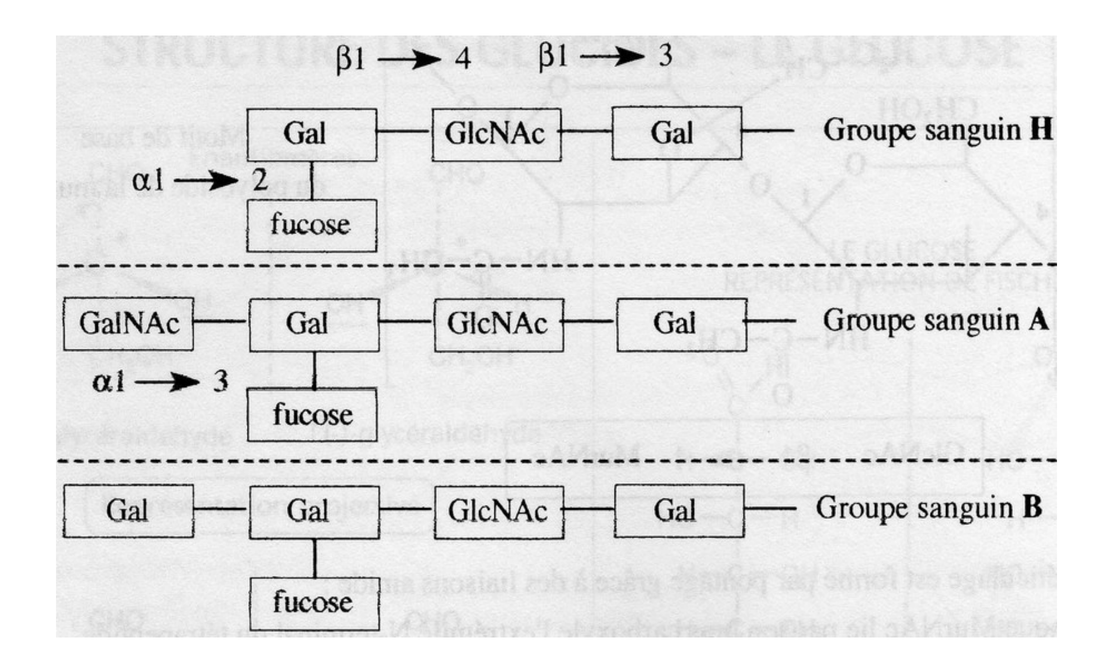
Acide sialique: NeuNAc acide N-acétylneuraminique

Les N-glycoprotéines
Les résidus d'asparagLne ne sont pas tous glycosylés. Seuls ceux inclus dans la séquence consensus Asn-X-Ser/Thr, où X représente un quelconque aminoacide, peuvent être glycosylés.
La plupart de ce type de protéines que l'on trouve dans les récepteurs membranaires, les molécules d'adhérence à d'autres cellules ou à leur matrice, les immunoglobulines, ont comme partie glycosidique un tronc commun de 5 oses:
- soit un bras de mannose
- soit un bras Gal-GlcNAc terminé par un acide sialique.

Les O-glycoprotéines
Tous les résidus de serine ou de thréonine ne sont pas glycosylés, contrairement au cas des Nglycoprotéines, on ne connaît pas de séquence consensus. On les trouve dans:
– les mucines, sécrétions de muqueuse (salivaire, bronchiale, intestinale)

- les globulines plasmatiques
- les glycoprotéines des groupes sanguins

Dans le système des groupes sanguins ABO, les déterminants antigéniques spécifiques sont glucidiques:
- l'antigène H est la structure de base, présent chez les individus de type 0.
- l'antigène A diffère de H par la présence d'une N-acétyl-D-galactosamine terminale.
- l'antigène B diffère de A par le remplacement du résidu terminal par du D-galactose.



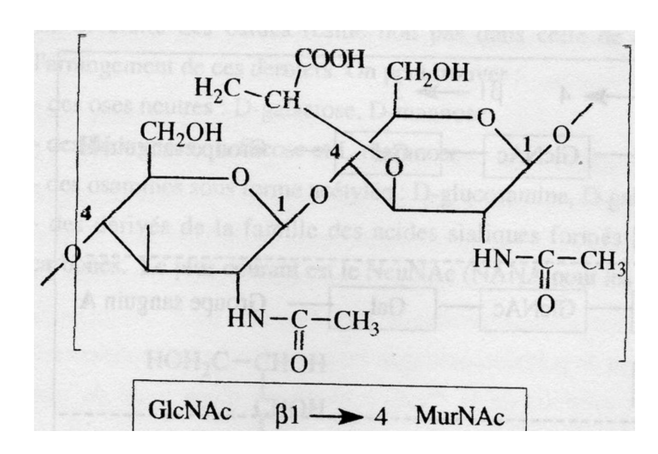
L'obstacle aux xénogreffes vient souvent de cette barrière immunologique où l'organisme humain ne reconnaît pas ces déterminants antigéniques de nature glucidique. Le porc serait un "bon donneur d'organes" s'il ne terminait pas ses glycoprotéines (GP) par le motif rxGal. On a créé par transgénèse des porcs, dits "humanisés", qui n'incorporent pas ce motif dans leurs GP et dont leurs organes peuvent être greffés sans rejet.

Les protéogtycannes

Ce sont des molécules en général très volumineuses, composées par l'association covalente de protéines et de polymères glucidiques appartenant à la famille des glycosaminoglycannes (GAG). Ces deniers résultent de la polycondensation linéaire d'unités d'osamines et d'acides uroniques qui peuvent être sulfatés.
La majorité de ces composés se trouvent dans la matrice extracellulaire (tissu conjonctif), dans les membranes plasmiques et quelques-uns sont intracellulaires.

Les peptidoglycannes

Les peptidogiycannes forment la paroi des bactéries qui leur donne leur forme et les protège. La structure de la muréine qui constitue la paroi de Staphylococcus aureus, dont on retrouve une architecture similaire chez les autres bactéries, est une association covalente de : - polyoside : répétition par des liaisons β d'une séquence diosidique de N-acétylglucosamine, mais l'un des oses (MurNAc) est substitué par condensation sur la fonction alcool du C3 avec l'acide lactique (acide muramique). - deux oligopeptides : un tétrapeptide et un pentapeptide.



Motif de base du polyoside de la muréïne

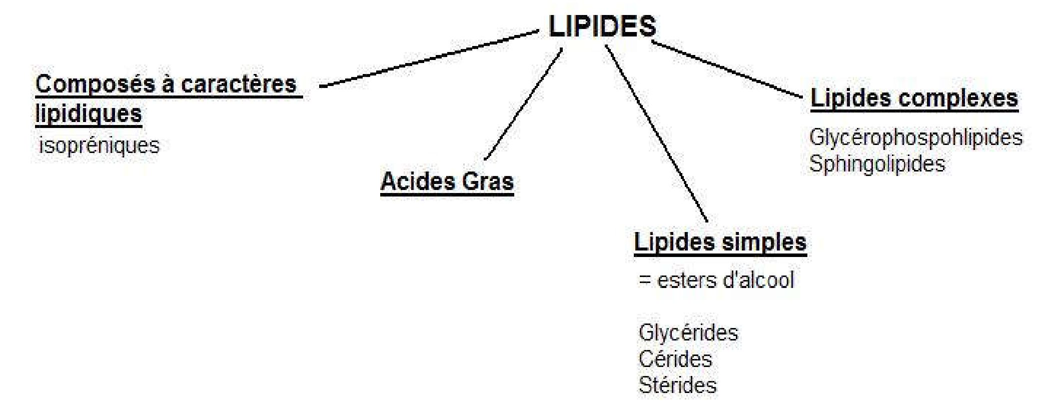
Le réticulage est formé par pontage grâce à des liaisons amide:
- chaque MurNAc lie par son bras carboxyle l'extrémité N-terminal du tétrapeptide
- le pentapeptide relie les tétrapeptides de deux chaînes par son extrémité N-terminal avec l'extrémité Cterminal d'un tétrapeptide et par son extrémité C-terminal avec le NH2 de la lysine, 3eme aminoacide de l'autre tétrapeptide.

Les lectines

Ces protéines reconnaissent de manière spécifique un séquence de résidus giucidiques. On les trouve dans les végétaux, les cellules animales, les bactéries et les virus.
Chez les plantes, on les a appelées sous le nom générique des agglutinines car la ricine de grain de blé provoquait l'agglutination létale des hématies. On les trouve essentiellement dans les graines et sont la plupart du temps toxiques pour les animaux.
Dans les cellules animales, elles peuvent avoir des fonctions:
- d'adressage glycosidique de molécules, par exemple les enzymes glycoprotéiques destinés aux lysosomes sont reconnues par des récepteurs membranaires
- de reconnaissance cellulaire : l'étape critique de reconnaissance de l'ovule par le spermatozoïde réside dans des O-GP de l'ovule reconnues par un récepteur du spermatozoïde qui est une lectine (sa fixation déclenche une sécrétion d'enzymes hydrolytiques).
- le pouvoir infectieux de bactéries et virus repose sur l'adhérence à la cellule hôte qui est réalisé par la reconnaissance des GP de l'hôte.
Les biochimistes utilisent ne nombreuses lectines végétales pour caractériser les GP par chromatographie d'affinité (concanavaline A).

Les Lipides

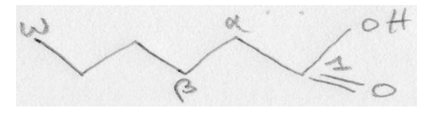
Ils forment un groupe de molécules organiques très hétérogènes sur un plan structural, mais dont la caractéristique commune est leur insolubilitée dans l'eau (= hydrophobe) et leur solubilité dans les solvants organiques non-polaires (éther, benzène, chloroforme, ...).
Ils sont difficilement classables. On peut les classer selon leur structure chimique, leur rôle, leur charge,...
Néanmoins:



Dans l'organisme animal, ces lipides ont plusieurs rôles biologiques important:
– rôle structural comme les phospholopides dans les membranes cellulaire,
– rôle de réserve énergétique, comme les matières grasses,
– rôle de médiateur comme les hormones,
– rôle dans le métabolisme (cofacteurs, vitamines, ..)

1. Les Acides Gras (AG)

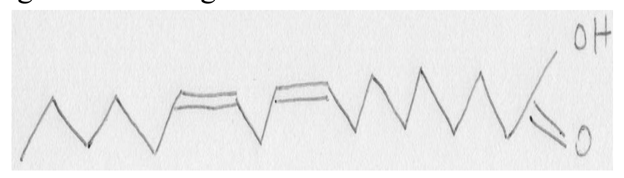
Structure
Définition
Les AG sont des acides carboxyliques (R-COOH), dont le radical R est une chaîne hydrocarbonnée plus ou moins longue.
CH3-(CH2)n-COOH
Le radical R donne à la molécule d'AG sont caractère hydrophobe.
La majorité des AG naturels présents donc une chaîne linéaire à nombre paires de C. Ils sont saturés ou en partie insaturés avec un nombre de doubles liaisons inférieur à 6.
AG les plus simples: saturés, à chaîne linéaire
Formule chimique: CnH2n02 (avec n pair en général)
CH3-(CH2)n-COOH 4



Stéréochimie: compte-tenu des angles de valence, on a 1AG en 3D.
Nomenclature: Par convention le C1 et le C portant la fonction -COOH. Il existe un numérotation grecque telle que le C suivant le C1 est dit Cα; Cβ; ... et le dernier C est toujours appelé le Cω
Il existe une nomenclature usuelle et une autre plus systématique (officielle).
Principaux AG: buta, hexa, octadécanoïque à connaître.
AG insaturés
Dans la nature, ils sont plus abondants que les saturés.
Dans leur structure il y a au moins une double liaison.
Nomenclature: Cn:x;Δy1z1;y2z2

n: nombre de C
x: nombre de doubles liaisons
Δ: double liaison

Stéréochimie: De façon générale les Ag sont en « cis ».

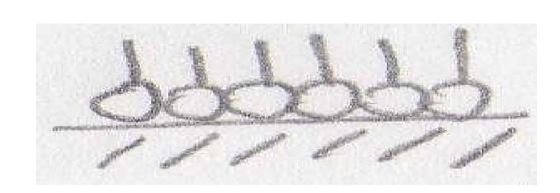


Le principal Ag monoinsaturé a un nombre pair de C = acide oléique = 85% des Ag d'huile olive.
Pour les Ag polyinsaturés, les double liaisons sont en générale non-conjugués, cad qu'elles sont séparées pa un groupement CH2.

-CH2-CH=CH-CH2-CH=CH-CH2-...
Les mammifères ont besoin des AG polyinsaturés, mais la majorité ne peuvent pas être synthétiser. On dit que sont des AG indispensables (ou essentiels), on doit les retrouver dans notre alimentation.
AG atypiques
Ils peuvent être AG cyclique, AG à chaîne ramifiée, AG à double liaison conjuguées, AG substitués...

Propriétés Physiques

Elles sont essentiellement déterminées par la longueur et les degrés d'instauration de la chaîne carbonée.
Point de fusion
Température à laquelle l'AG existe sous forme liquide.
Il varie selon deux paramètres: le nombre de C et le degrés d'instauration.
* Plus le nombre de C est important, plus la température de fusion est élevée.
* La température de fusion diminue avec le nombre de d'instauration.
Densité
La densité des AG est faible, l'huile flotte sur l'eau.
Solubilité
Les AG possèdent un pôle hydrophobe (-COOH) et un pôle hydrophobe (-R).
Seuls les AG à chaîne courte (C4, C6) sont solubles dans l'eau. Les autres ont un radical trop long et le caractère apolaire l'emporte au caractère polaire.
Les doubles liaisons diminue le caractère apolaire.
En milieu aqueux, les AG s'associent par leur chaîne C, ils établissent des liaisons hydrophobes, pour évacuer les molécules d'eau auxquelles elles ne présentent que la partie polaire (-OH).
Si les AG sont en surface, ils vont se disposer en « palissade ».

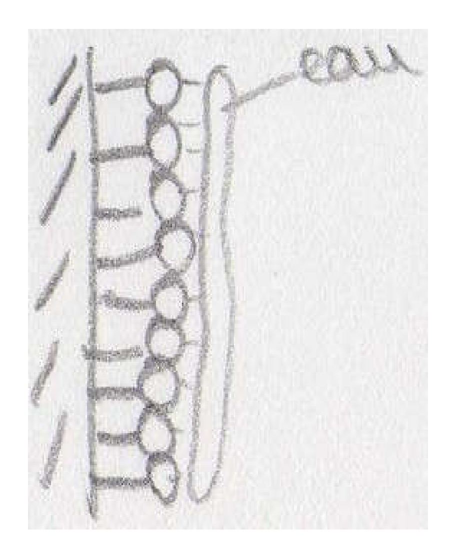


Ils forment « un film monomoléculaire ».
Si on les agitent fortement dans l'eau, il y a création de micelles = création d'une émulsion.

Pour solubiliser la plupart des AG on utilise des solvants organiques apolaires (éther, benzène).
Séparation des AG en Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)
*On méthyle les AG pour les rendre plus volatiles
*On injecte le mélange qui va être entrainé par la phase mobile = gaz ineert (azote, hélium,...). Les AG seront plus ou moins retenus dans la colonne par une phase stationnaire qui est apolaire (généralement), on fait alors « une chromato. en phase inverse ».
*Les AG sont détectés à la sortie de la colonne, on obtient les résultats du type chromatographes = pics.
Le temps de rétention varie en fonction du nombre de C et du nombre de double liaisons.
+ AG est long, + il est retenus dans la colonne
+ double liaisons imp, + le temps de rétention est important
Chanque pic est caractérisé par son temps de rétention et par sa surface (S proportionnelle à la concentration).
Cette technique de séparation permet la séparation, l'identification et le dosage des AG présent dans le mélange.

Propriétés Chimiques

Elles dépendent de la présence du groupement -COOH, de la présence éventuelle de double liaison, la présence éventuelle d'autres radicaux. La chaîne hydrocarbonnée ne présente pas de propriétés chimique particulière.
Dues à la fonction -COOH
Formation de sels alcalins = Les Savons
En présence de Base (KOH, NaOH), les AG donnent des sels (ions) appelés communémentSAVONS.
$R\text{-}COOH + Na^+ \rightarrow R\text{-}COO^-, Na^+ + H_2O$
Ces savons alcalins sont (fortement) ionisés et dissociés dans l'eau. Les anions obtenus ($RCOO^-$) sont hydrophiles.
Le caractère polaire se trouve alors renforcé, ce qui rend les savons solubles dans l'eau.
Ces anions ($R\text{-}COO^-$) restent toutefois amphiphiles, mais la formation du film monomoléculaire et des micelles dans l'eau se fait bcp plus facilement qu'avec les acides gras.
L'action des savons est donc multiples. Ils permettent une meilleure solubilisation des lipides, d'abaisser le Tension Superficielle aux interfaces. On dits qu'ils sont des Tensio-Actifs (TA).
Tension Superficielle: Force qui se manifeste entre 2 phases différentes (eau/air; eau/huile).Elle tend à diminuer au minimum la surface de contact entre ces 2 phases.
Conséquences: lors d'une émulsion sans savon, les gouttes formées ont tendance à fusionner entre elles du fait des tensions superficielles pour diminuer la surface de contact entre les 2 phases.
Si on ajoute du SAVON, on obtient un grd nombre de fines gouttelettes qui sont stabilisées.
Ceci explique les propriétés des savons.
Propriété mouillante:



Propriété moussante: Les savons peuvent emprisonner l'air au sein des micelles.

Propriété émulsionnante: Les savons enrobent à l'intérieur des micelles stables des substances hydrophobes (comme l'huile). Sur le même principe, dans l'air il peut y avoir formation de bulles de savon. Un mince film d'eau est comprimé au centre de la bicouche constituée des têtes hydrophiles des savons. Les queues hydrophobes sont orientées vers l'air.

Remarque: Salification / Saponification
Salification: formation de savons à partir d'Ag purs.
Saponification: même réaction mais à partir de matières grasses naturelles qui sont en générales des mélanges complexes d'Ag. On traite les lipides avec des bases jusqu'à ébullition, on obtient alors 2 phases: une hydrosoluble = savons = « fraction saponifiable », et une autre hydrophobe = « l'insaponifiable »
Formation de sels de métaux lourds
Les savons peuvent être précipités en présence de sels de métaux lourds (Ca^{2+}, Mg^{2+}, ...)

$2R\text{-}COO^-, Na^+ + Ca^{2+} \rightarrow (RCOO)_2Ca + 2Na^+$
Application: quand les eaux sont riches en Ca^{2+} (« dures »), on a du mal a obtenir de la mousse en présence de lessive par exemple.
Dosage des AG
Détermination de l'indice d'acide:
Le radical -COOH a un pKA d'environ 4,7 – 4,8.

$R\text{-}COOH + OH^- \rightarrow RCOO^- + H_2O$
Ce dosage permet d'apprécier la quantité d'Ag libres au sein d'un mélange lipidique (application en agroalimentaire).
Pour cela on utilise l'indice d'acide:
nombre de mg de potasse (KOH) nécessaire pour neutraliser l'acidité libre contenue dans 1g de matière grasse.
Calcul de l'indice d'acide IA:

$R\text{-}COOH + OH^- \rightarrow RCOO^- + H_2O$
A l'équivalence on a: $n_{KOH} = n_{AG}$ présent
$m_{KOH} / M_{KOH} = m_{AG} / M_{AG} \Rightarrow m_{KOH} = (m_{AG} \times M_{KOH}) / M_{AG}$
$IA = 1\,000 \times (M_{KOH} / M_{AG})$
Estérification

R-COOH + R'-OH- --> R-(C=O)-O-R' + H_2O
AG + alcool --> ester Ce qui explique la formaiton de lipides plus complexes.
Il existe des enzymes qui réalisent cette réaction..
Dues à la présence éventuelle de doubles liaisons
Réaction d'addition
Hydrogénation:
... CH_2-CH=CH-CH_2 + H_2 --> -CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-...
Application: procédé utilisé pour faire de la margarine à partir d'huile notamment. La margarine résiste mieux à l'oxydation que les huiles.
Halogénation: détermination de l'indice d'iode (ID). On détermine le nombre de double liaisons dans un AG.
Par définition l'indice d'iode est:
nombre de g d'iode que peuvent fixer 100g de matières grasses
Calcul de l'indice d'iode ID:

R-CH=CH-R'-COOH + I_2 --> R-CHI-CHI-R'-COOH
A l'équivalence on a: nI_2 fixé = x.nAG présentavec x le nombre de doubles liaisons
mI_2 / MI_2 = x. (mAG / MAG) => mI_2 = x. ((mAG x MI_2) / MAG)
ID = 100x.MI_2 / MAG

mAG = 100 car on par sur la base de 100g de matière grasses
Réaction d'oxydation
L'oxydation par $KMnO_4$ en milieu alcalin provoque la coupure de l'acide gras au niveau de la double liaison ce qui donne deux acides carboxyliques.

R-CH=CH-R'-COOH + $KMnO_4$ --> R-COOH + HOOC-R'-COOH
Il y a formation d'un acide et d'un diacide pour chaque double liaison.
Cette réaction, suivit de l'analyse des produits formés, permet de déterminer la position de la double liaison dans la molécule.
Les AG peuvent s'oxyder lentement avec le dioxygène de l'air. On dit qu'ils subissent une auto-oxydation. On obtient des époxydes qui peuvent aboutir à la rupture de la double liaison et à la formation d'acide ou d'aldéhydes, responsable de la mauvaise odeur des matières grasses. Ce mécanisme peut-être facilité par les radiation (comme les UV).
L'auto-oxydation des huiles insaturés s'accompagne secondairement d'une polymérisation provoquant le durcissement de ces huiles à l'air; c'est appelé la siccativité.
En milieu biologique, l'oxydation est particulièrement importante notamment l'oxydation des lipides insaturés des membranes biologiques qui produit des dérivés très toxics. Les UVA peuvent notamment favoriser ce phénomène, tout comme les radicaux libres.

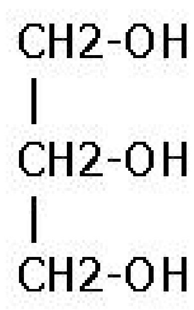
2. Les lipides simples

Se sont des composés ternaires (C, H, O); se sont des esters d'acides gras et d'alcools. Ils sont classés en fonctions de l'alcool qui compose la molécule.
– Glycérides: alcool = glycérol
– Cérides: alcool à nombre important de C
– Stérides: alcool = stérols ou dérivés

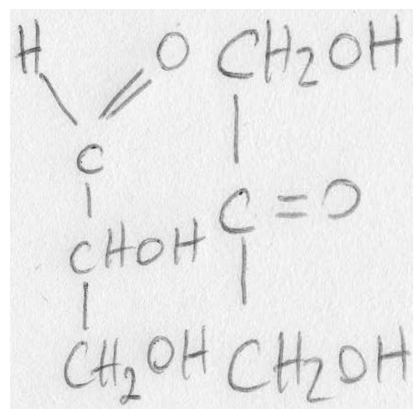
Acides glycérols = Glycérides

Définition

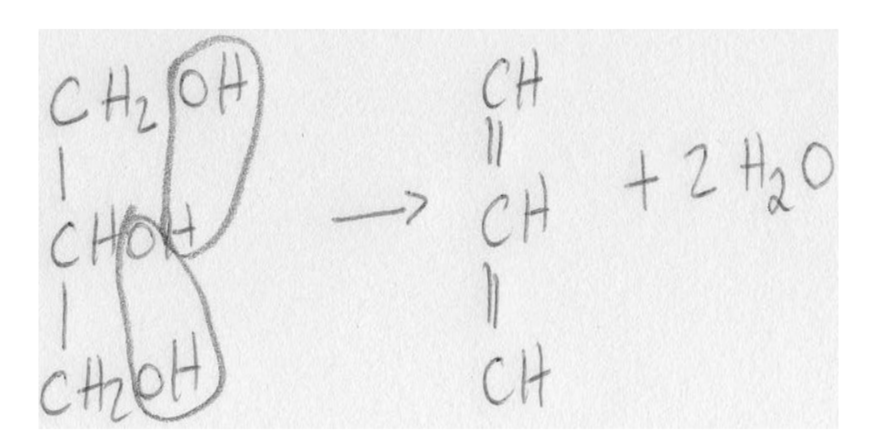
Ester d'acide gras + Glycérol, selon le nombre de fonction -OH du Glycérol estérifié, distingue mono, di, triglycérides.
Se sont les plus important. Ils constituent la majeure partie des matières grasses.
Glycérol



Propriétés chimiques
Liquide visqueux, incolore, saveur sucrée et plus dense que l'eau. Il est soluble dans l'eau du fait des -OH, donc insoluble dans les solvants organiques. Il est non actif optiquement.
Il a un point de fusion bas (utilisé comme antigel notamment).
Propriétés chimiques
Soumis a des estérifications par des AG il peut donner des dérivés important comme le glycéraldhéyde, dihydroxyacétone.



Par déshydratation intramoléculaire on obtient l'acrotéïne.



Estérification
R-COOH + R'-OH --> R-(C=O)O-R' + H2O
En fonction du nombre d'AG on obtient mono, di, triglycérides.
Monoglycérides: On peut obtenir des αmonoglycérides si le radical se fixe sur un carbone en bout de chaîne. On peut donc également obtenir des βmonoglycérides si le radial se fixe sur le carbone du milieu.
Diglycérides: On peut avoir des αα'diglycérides si les radicaux sont fixés sur les carbones extrêmes, mais également des αβdiglycérides si les radicaux sont fixés un sur le carbone du milieu et l'autre à un des carbones des extrémités.

Triglycérides: Les radicaux sont fixés aux trois « branches » du Glycérol. Si R1 = R2 = R3 alors on parle de « triglycérides homogènes » (a contrario ils sont hétérogènes). Les triglycérides homogènes sont très rares dans la nature. En général on trouve R1 et R3 en AG saturés et R2 en AG insaturés préférentiellement.

Nomenclature

On rajoute le radical « oyl » ou « yl » pour l'AG et ensuite la terminaison « Glycérol ».

ex: TriPalmitoylGlycérol

ex: 1,3dipalmitoyl,2oléylglycérol

Remarque: la plupart des glycérides sont des triglycérides.

Propriétés physiques

La propriété physique dépend de la nature et du nombre d'AG consécutifs.

Point de fusion

Qd l'AG a une chaîne insaturée, la température de fusion = 15°C, il est donc liquide à des températures ordinaires => huiles

Qd l'AG a une chaîne saturée et courte, la température de fusion = 25°C, => beurres

Qq l'AG a une chaîne saturé et longue, la température de fusion = 35°C => graisses animales

Qd l'AG a une chaîne saturée et longue, la température de fusion = 45°C => suifs (graisse de boeuf)

Solubilité

Ils sont totalement hydrophobes, donc totalement insolubles dans l'eau, et donc très solubles dans les solvants organiques.

Activité optique

Les αmonoglycérides, les αβdiglycérides et les triglycérides hétérogènes ont des C* ils ont donc un pouvoir rotatoire.

Propriétés chimiques

Hydrolyse enzymatique

Les triglycérides sont hydrolysés par des lipases:

TG --> DG + AG --> MG + AG --> Glycérol + AG

Dans l'organisme humain, l'absorption digestive des lipides dépend non seulement d'enzymes lipidiques mais également du degrés d'émulsion des lipides dans l'intestin. La bile assure cette émulsion naturelle.

Remarque: dans les tissus adipeux, il existe une lipase dite hormosensible qui hydrolyse les Tg en AG libre + Glycérol au fur et à mesure des besoins.

Hydrolyse alcaline

Il s'agit de la saponification, elle se fait en milieu alcalin et à chaud.

On obtient alors que des produits hydrosolubles appelé « le saponifiable ». Cette réaction a

permis de définir un critère en analyse alimentaire, c'est l'indice de saponification IS.
Par définition l'indice de saponification est:
nombre de mg de KOH nécessaire pour saponifier ET neutraliser l'acidité libre d'1g de corps gras (à ébullition)
Cet indice varie donc selon le nombre d'AG libres présents dans le corps gras (Iacide) mais aussi du degrés d'estérification des glycérides.
Rappel: l'indice d'acide : quantité en mg de KOH nécessaire pour neutraliser l'acidité d'1 g de corps gras.

Le KOH coupe les liaisons esters, puis neutralise l'acidité des AG libérés. Dans le cas d'unAG pur, l'Isap = Iacide.
Dans le cas où le corps gras est constitué de TG et d'AG libres, le KOH utilisé va servir à la foi à la saponification des esters ainsi qu'au dosage de l'acidité libre des AG. On défini ainsi un autre indice: l'Indice d'Esters IE.
Par définition l'indice d'esters est:
le nombre de mg de KOH nécessaire pour saponifier les ester d'1 g de matières grasses.
Ainsi on a IS = IA + IE

TG + 3OH- --> R1-COO- + R2-COO- + R3-COO- + Glycérol
nOH- = 3nTG --> mOH- / MKOH = 3 x (mTG / MTG)
--> mOH- = 3 x (mTG x MKOH) / MTG
d'où IS = 3 x 1000 x (MKOH / MTG)
Répartition des rôles biologiques
Rôles principaux des TG = réserve d'énergie
Se sont des molécules de stockage des AG. Ce stockage se fait dans des tissus spécialisés.
Pour les végétaux se sont les graines ou les fruits;
Pour les animaux se sont les tissus adipeux où les TG représentent 90% des lipides composants ce tissus.
Il existe deux types de tissu adiupeux:
– le blanc, où l'hydrolyse des Tg assure la production d'énergie,
– le brun, assure une production de chaleur (on le retrouve chez les animaux exposés au froid).

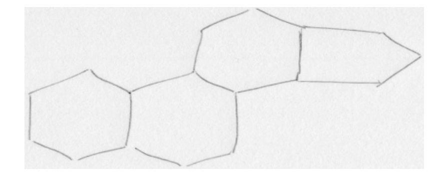
Rôle d'isolement thermique
Par ex. les phoques, les pingouins ont une grande quantité de Tg stocké sous la peau.

Les cérides = cires

Se sont des esters d'AG avec un alcool estérifié à une grande chaîne carbonée (jusqu'à 50 C),avec un chaîne généralement saturée.
Nomenclature
Ex: acide palmitique + alcool céthylique (C16) => Palmitate de céthyle
Propriétés
Ils sont très hydrophobes, donc insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants.
Si on les saponifie cela donne un alcool à grande chaîne et un AG sous forme de savon.
Ici les alcools à longue chaîne sont hydrophobes, ils constituent le saponifiable.
Rôle
Les cires donnent donc des couchent imperméables et sont de bons isolant thermiques. Par exemple elles recouvrent les ailes des oiseaux, par ex les cires végétales, ..

Les stéroïdes

Se sont des esters d'AG et de stérols



Chez les humains, les stéroïdes sont issus de l'estérification du cholestérol qui porte les groupement -OH en C3. Quand il y a saponification, cela donne un stérol et un savon où le stérol et insoluble dans l'eau.